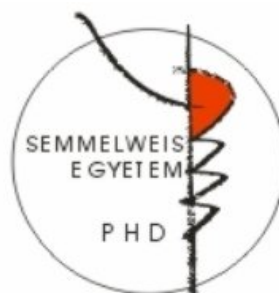


Magyarországi Wilson-kóros betegek genetikai és klinikai jellemzői

Doktori (PhD) értekezés

Kuczyné dr. Folhoffer Anikó

Témavezető: Dr. Szalay Ferenc, egyetemi tanár, az MTA doktora



2008 Budapest

I. sz. Belgyógyászati Klinika,

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola, 2/24 program

Klinikai orvostudományok Doktori Iskola, Vezető: Dr. Tulassay Zsolt

Programvezető: Dr. Tulassay Zsolt

Szigorlati Bizottság

Elnök: Prof. Dr. Banai János

Tagok: Dr. Herszényi László

Dr. Székely György

Hivatalos bírálók:

Dr. Arató András, egy. tanár, a MTA doktora

Dr. Szalay László, o.vez. főorvos, CsC

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | TARTALOMJEGYZÉK | |
| 1 | TARTALOMJEGYZÉK | 3 |
| 2 | MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓ | 5 |
| 3 | SUMMARY | 6 |
| 4 | RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE | 7 |
| 5 | IRODALMI ÁTTEKINTÉS | 8 |
| 5.1 | Történelmi mérföldkövek | 8 |
| 5.2 | Epidemiológia | 9 |
| 5.3 | Patogenezis – patomechanizmus | 9 |
| 5.3.1 | Genetikai háttér – a Wilson-kór génje és az ATP7B protein | 9 |
| 5.3.2 | A réz metabolizmusa, réztoxicitás és az ATP7B protein szerepe | 10 |
| 5.3.2.1 | Réz anyagsere | 10 |
| 5.3.2.2 | A réz toxikus hatása | 11 |
| 5.3.2.3 | Az ATP7B protein szerepe | 12 |
| 5.4 | Klinikai megjelenés | 13 |
| 5.4.1 | Hepatológiai megjelenés | 13 |
| 5.4.1.1 | Akut májbetegség előfordulása | 14 |
| 5.4.2 | Neuropszichiátriai megjelenés | 15 |
| 5.4.3 | Egyéb szervi manifesztációk | 15 |
| 5.4.3.1 | Szemészeti eltérések | 15 |
| 5.4.3.2 | Renalis manifesztáció | 16 |
| 5.4.3.3 | Haemolysis | 16 |
| 5.4.3.4 | Csont és mozgásrendszeri eltérések | 16 |
| 5.4.3.5 | Kardiológiai eltérések | 17 |
| 5.4.3.6 | Bőr és köröm eltérések | 17 |
| 5.4.3.7 | Endokrin eltérések | 17 |
| 5.5 | Genotípus-fenotípus összefüggések | 17 |
| 6 | CÉLKITŪZÉSEK | 19 |
| 7 | BETEGEK ÉS MÓDSZEREK | 20 |
| 7.1 | Vizsgált személyek | 20 |
| 7.1.1 | Wilson betegek | 21 |
| 7.1.2 | Kontroll csoport | 21 |
| 7.2 | Módszerek | 22 |
| 7.2.1 | Klinikai laboratóriumi paraméterek | 22 |
| 7.2.1.1 | Rutin biokémiai laboratóriumi vizsgálatok | 22 |
| 7.2.1.2 | Szérum cöroloplazmin | 22 |
| 7.2.1.3 | Szérum réz meghatározás | 22 |
| 7.2.1.4 | 24 órás gyűjtött vizelet | 22 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 7.2.1.5 | D-penicillamin próba..... | 22 |
| 7.2.2 | Kayser-Fleischer gyűrű kimutatása..... | 22 |
| 7.2.3 | A máj szövettani vizsgálata..... | 23 |
| 7.2.4 | Genetikai vizsgálatok..... | 23 |
| 7.2.4.1 | DNS izolálása..... | 23 |
| 7.2.4.2 | H1069Q mutáció kimutatása..... | 23 |
| 7.2.4.3 | Az <i>ATP7B</i> gén további mutációinak vizsgálata..... | 23 |
| 8 | EREDMÉNYEK..... | 24 |
| 8.1 | Az <i>ATP7B</i> gén mutációinak vizsgálata magyar Wilson-kóros betegek körében..... | 24 |
| 8.1.1 | A H1069Q mutáció előfordulási gyakorisága magyarországi Wilson-kóros betegekben..... | 24 |
| 8.1.1.1 | A magyarországi Wilson betegek klinikai adatai..... | 25 |
| 8.1.1.2 | Esetismertetések..... | 28 |
| | Példák a betegség változatos klinikai megjelenésére..... | 28 |
| 8.1.2 | Az <i>ATP7B</i> gén további mutációinak előfordulási gyakorisága magyarországi Wilson-kóros betegekben..... | 33 |
| 8.1.2.1 | Új mutációk..... | 35 |
| 8.1.3 | Családvizsgálatok..... | 36 |
| 8.2 | Akut májbetegség előfordulása magyarországi Wilson-betegekben..... | 38 |
| 9 | MEGBESZÉLÉS..... | 42 |
| 9.1 | Az <i>ATP7B</i> gén mutációinak előfordulási gyakorisága magyar Wilson-kóros betegek körében | 42 |
| 10 | ÚJ EREDMÉNYEK ÉS AZOK GYAKORLATI JELENTŐSÉGE..... | 50 |
| 11 | SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE..... | 52 |
| 12 | KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS..... | 63 |
| 13 | IRODALOMJEGYZÉK..... | 64 |

2 MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓ

A Wilson-kór háttérében az *ATP7B* génnek ma már több mint 350 mutációja ismert a humán genom Wilson adatbázisa szerint. Munkacsoportunk korábbi kutatásai során megállapította, hogy hasonlóan más közép-kelet-európai országokhoz, Magyarországon is a H1069Q mutáció a leggyakoribb. Nemzetközi viszonylatban is jelentős számú betegben (n=142) vizsgáltuk az *ATP7B* gén mutációit, felmértük a genetikai vizsgálat jelentőségét Wilson-kórban.

Összesen 35 különböző mutációt mutattunk ki. A Magyarországon leggyakoribb H1069Q mutációt 100 betegben (70%) azonosítottuk. Ezen kívül szekvenálással további 34 mutációt találtunk, köztük tíz olyat, amelyet eddig még nem közöltek, és a nemzetközi Wilson-gén adatbázisban sem szerepelnek: L517-fs (c1549-1559del11), N676I, S693Y, Y715H, M769L, W939C, V1001G, V1039F, P1273S és G1281D. A 142-ből 51 beteg (36%) esetében a WD diagnózisát a mutációanalízis segítségével állítottuk fel, ezzel feleslegessé téve a további diagnosztikai vizsgálatokat.

Eredményeink alátámasztják a genetikai vizsgálat jelentőségét a hepatológiai manifesztációjú Wilson betegekben és a családszűrésben. Mindezt számos beteg példájával bizonyítottuk. A magyarországi Wilson-betegekben az akut májelégtelenség előfordulását viszonylag gyakorinak találtuk és azt tapasztaltuk, hogy több betegben is H1069Q heterozigóta genotípussal társult.

3 SUMMARY

The number of known mutations within the *ATP7B* exceeds the 350 according to the recent data of Wilson disease (WD) mutation of the Human Genom database. In Hungary similarly to patients with WD from Northern, Eastern or Central European countries the H1069Q point mutation is the most frequent one, as we reported earlier. To assess the impact of genetic testing for diagnosis of WD the mutations of *ATP7B* gene were studied in an internationally large number of patients (n=142).

Altogether 35 different mutations were found. H1069Q was the most frequent mutation in Hungary, detected in 100 patients (70%). Thirty-four further mutations were found by sequencing, including ten new, hitherto undescribed and not listed in the international WD mutation database: L517-fs (c1549-1559del11), N676I, S693Y, Y715H, M769L, W939C, V1001G, V1039F, P1273S and G1281D. In 51/142 patients (36%) the diagnosis of WD was established by adding mutational analysis, making further diagnostic tests unnecessary.

Our results confirmed the general view of impact of genetic testing in patients presenting with hepatic disease or asymptomatic siblings of an index case, as we documented in several case reports. The occurrence of acute hepatic failure was relatively frequent among the Hungarian Wilson patients and seemed to be associated with H1069Q heterozygous genotype.

4 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

| | |
|-----------|--|
| ALT = GPT | alanin-aminotranszferáz |
| AST = GOT | aszpartát-aminotranszferáz |
| ATP7B | a Wilson-kór génje |
| BMD | csont ásványianyag denzitás |
| BUA | az ultrahang hullám frekvenciafüggő intenzitás gyengülése |
| CaSR | kalcium érzékelő receptor |
| DNS | dezoxi-ribonukleinsav |
| DPA | D-penicillamin |
| EDTA | etilán-diamin-tetraacetát |
| EEG | elektroencephalogramm |
| f/n | férfi/nő |
| GGT | gamma-glutamil-transzferáz |
| GSH | glutathion |
| H1 | a Wilson-kór krónikus hepatológiai formájának akut manifesztációja |
| H1069Q | az 1609. aminosav His-Gln cseréjével járó mutáció |
| H2 | a WD krónikus hepatológiai manifesztációja |
| HE | hepaticus encephalopathia |
| HPLC | high pressure liquid chromatography |
| INR | international normalized ratio |
| KFR | Kayser-Fleischer gyűrű |
| MAO | mono-amino-oxidáz |
| MRI | mágneses rezonancia kép |
| N1 | májbetegséggel szövődött neurológiai manifesztáció |
| N2 | neurológiai manifesztáció májbetegség nélkül |
| OCN | osteocalcin |
| OPG | osteoprotegerin |
| PCR | polimeráz láncreakció |
| PT | prothrombin idő |
| RFLP | restrikciós fragment hossz polimorfizmus |
| S | tünetmentes betegek |
| WD | Wilson-kór |
| WHO | World Health Organisation |
| β-CTx | béta-keresztkötés |

5 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

5.1 Történelmi mérföldkövek

A Wilson-kórt teljességében elsőként Samuel Alexander Kinnier Wilson (1. ábra), brit neurológus írta le, és ő nevezte el hepatolenticularis degenerációnak¹. Bár nála már jóval korábban mások is leírták a pseudosclerosis nevű tünetegyüttest^{2, 3, 4}, ők a betegség lenticularis és hepatológiai vonatkozását nem említették, így két jelentős tünetet hagytak figyelmen kívül.



S.A.K. Wilson
(1878-1937)

A corneában lerakódott réz által okozott jellegzetes gyűrűt első leírójukról Kayser-Fleischer gyűrűnek nevezték el^{5, 6}, a két szemész akkor még nem is sejtette, hogy a betegséget a réz kóros felhalmozódása okozza.

A réz etiológiai szerepére elsőként Rumpel hívta fel a figyelmet, aki excesszív rézlerakódást észlelt a májban⁷. 1952-ben két munkacsoport egymástól függetlenül számolt be Wilson-betegekben észlelt alacsony szérumbilirubin szintről^{8, 9}.

Bár a réz szerepe a kórkép kialakulásában régóta ismert, csak 1993-ban sikerült azonosítani azt a gént (*ATP7B*), amelynek mutációja a betegségért felelős^{10, 11, 12}.

Amióta 1993-ban azonosították a Wilson-kór génjét a 13. kromoszómán (13q14.3-q21.1), több mint 350, e betegséget okozó mutációt írtak le^{10, 11, 12}.

A genetikai vizsgálatok klinikai haszna egyre jelentősebb^{13, 14}. Számos esetben, így Wilson-kór esetében is lehetővé teszik a betegség diagnosztizálását még akkor, amikor semmilyen klinikai tünet nincsen vagy azok csak igen enyhék.

Világszerte kutatás tárgya, hogy egy adott genetikai konstelláció összefügg-e a betegség pathomechanizmusával, klinikai megjelenésével, és fordítva, hogy az adott betegségben kimutatható-e olyan genetikai háttér, ami a betegség megjelenése vagy gyógyítása szempontjából fontos^{15, 16}.

Az első hatékony, de igencsak fájdalmas injekciós dimercaptopropanol (British Antilewisite: BAL) kezelést a réz patogenezisben játszott toxikus szerepének tisztázása tette lehetővé^{17, 18}. Később a dimercaprol kezelést Walsche felfedezésével – miszerint a D-penicillamine szignifikánsan megnövekedett vizelettel történő rézkiválasztást okoz – az orális D-penicillamine¹⁹ és trientine váltotta fel.

Cink készítményt Schouwink használt először a Wilson-kór kezelésére 1961-ben²⁰. A következő évtizedekben a cinkkezelés került a figyelem előterébe; csak Brewer és munkacsoportja több, mint 50 cikket írt a cinkterápiáról²¹.

5.2 Epidemiológia

A Wilson-kór prevalenciáját világviszonylatban 3/100000-re becsülik, ez 0,56%-os allélfrekvenciát jelent, az egészséges hordozók aránya pedig 1/90-150^{22, 23, 24}. Egyes európai országokban ezek az arányok sokkal alacsonyabbak²⁵, míg az olyan népeknél ahol a vérszerinti rokonok közötti házasság elfogadott, ez a szám viszonylag magas. Japánban a becsült prevalencia 3,3/100000²⁶, Costa Ricában meghaladja a 6/100000-t²⁷.

Mivel a magyarországi Wilson betegek pontos száma nem ismert, így csupán a nemzetközi adatok alapján extrapolált értéket vehetjük alapul. A Wilson-kór becsült prevalenciáját a teljes magyar lakosságra számítva Magyarországon két-három százra tehető a Wilson-betegek száma.

5.3 Patogenezis – patomechanizmus

5.3.1 Genetikai háttér – a Wilson-kór génje és az ATP7B protein

A Wilson-kór génje (ATP7B) a 13. kromoszóma hosszú karján helyezkedik el (13q14,3-q21,1), és egy P-típusú réztranszportáló ATP-áz fehérjét kódol²⁸. A WD gén nagyfokú (57%-os) homológiát mutat a Menkes-kór génjével, ami a rézanyagcsere egy másik betegsége^{29, 30, 31}. Míg az ATP7B, csakúgy, mint az ATP7A protein inaktivációja súlyos neurodegeneratív betegségekhez vezet, túlműködésüknek viszont a daganatsejtek platina tartalmú kemotareptikumokkal szembeni rezisztenciájában van szerepe^{32, 33}.

Az ATP7B gén főként a májban expresszálódik, de kisebb mértékben a vesében, az agyban és a placentában is. A mintegy 100 kb-nyi DNS régió 22 exont tartalmaz, az általa kódolt fehérje 1465 aminosavból áll²⁸. A protein hat N-terminális rézkötő domént, egy ATP-kötő domént, egy transzmembrán kationcsatornát, egy foszforilációs régiót és egy transzdukciós domént tartalmaz, ami az ATP-hidrolízis energiáját kationtranszportra fordítja, valamint nyolc hidrofób régiót^{34, 35}.

A legtöbb mutáció csak néhány indexbetegben és családjában fordul elő. Az észak-, kelet- és közép-európai Wilson-betegekben a 14-es exonon található H1069Q pontmutáció a leggyakoribb^{34, 36, 37, 38, 39, 40}. Itt a 3207. helyen lévő citozin → adenin

transzverzióval járó missense mutáció miatt az 1069. pozícióban lévő hisztidin helyett glutamin épül be az ATP-kötő domén SEHPL régiójába, ami miatt nem jön létre az ATP kötése, s ezáltal károsodik a molekula működése³⁵. Amennyiben a betegben ez a meglehetősen ősinek tartott mutáció van jelen, akkor még kimutatható reziduális ATP7B működés, más mutációk esetén azonban ez teljesen hiányozhat⁴¹. A hazánkban is leggyakoribb H1069Q mutációt tovább vizsgálva kiderült, hogy ez a mutáció nem befolyásolja szignifikáns mértékben az N-domén szerkezetét, viszont az ATP szoros kötődését megakadályozza. Az N-domén szerkezetének ismerete magyarázatot ad több, mint 30 ismert Wilson mutáció károsító hatásmechanizmusára. Az N domén egyedi sajátosságai lehetővé tehetik az ATP7B protein specifikus inhibitorainak, illetve regulátorainak kifejlesztését is³³.

Viszonylag gyakoriak a 8. exon mutációi is, amelyeket az európai Wilson-kórosok 10%-a⁴², a japán betegek több mint 30%-a hordoz⁴³. Ezek a mutációk a 2-es, 3-as és 4-es transzmembrán régiókat érintik. A betegek további 5%-ában figyelhető meg a 3400delC mutáció (15-ös exon)⁴². Ebben a mutációban nem a réz-, hanem az ATP-kötő régió érintett.

Korábbi munkánkban a H1069Q mutációt a betegek 62%-ában mutattuk ki³⁶. Több beteget vizsgálva e mutáció előfordulást még gyakoribbnak találtuk, és további exonok analizálásával számos új mutációt, közöttük kilenc eddig még nem ismert mutációt találtunk a magyarországi betegekben.

5.3.2 A réz metabolizmusa, réztoxicitás és az ATP7B protein szerepe

5.3.2.1 Réz anyagcsere

Mivel a réz esszenciális nyomelemként számos biológiai reakcióhoz nélkülözhetetlen – fontos metalloenzimeknek, mint a tirozináznak, a citkrómoxidáznak, a katekolamin bioszintézisben lényeges dopamin β -hidroxiláznak, a szuperoxid dizmutáznak, a lizil oxidáznak és a cöruoplazminnak kofaktora – bizonyos mennyiségének tápanyaggal történő felvételére van szükségünk, ennek napi átlagos mennyisége megközelítőleg 1-3mg. A napi rézbevétel ennél valamivel több, ezért a felesleget el kell távolítani. Normális esetben a réz nagy része a cöruoplazminhoz erősen kötött, míg kis mennyiségben gyengébben kötődik az albuminhoz és aminosavakhoz. A cöruoplazmin 0,3% rézet tartalmaz. A plazma szabad réz koncentrációja 0,1mg/l⁴⁴.

A réz részt vesz az oxidatív metabolikus folyamatokban – ideértve a mitokondriális sejtszintű respirációt és a szabadgyök detoxifikációt – a kollagén és elasztin keresztkötések kialakításában és a melaninképzésben ⁴⁵.

A rézanyagcserének kapcsolata van a vasanyagcserével is. A ferro⁺⁺-t ferri⁺⁺⁺-vé alakítja, oxidálja. A réz katalizátorként működik a hemoglobinépités egyes reakcióiban. A cöruoplazminhiány – mint ferroxidáz enzim hiány – a vasnak a májban történő raktározódását hozza létre ⁴⁶. A Wilson-kórban kialakuló anaemia mértékének csökkentésében nagy szerepe van az extrahepatikusan termelődő holocöruoplazminnak, amely az intracellularis rézszállító ⁴⁷.

A normális rézhomeosztázist a vékonybélből történő felszívódás és az epeúti kiválasztás közötti egyensúly tartja fenn. A per os beadott réz 40-70%-a szívódik fel, és 90-150 perc után mutatható ki a keringésben ⁴⁸. A bélből az albuminhoz kötött réz a vena portae-n jut a májba, ott egy specifikus, membrán-facilitált transzport rendszer révén a májsejtekbe kerül. A hepatocytákban a réz a cytosol cuprophillinhez (10000D), a cytosol metallothioneinhez (6000D) és az ATP7B proteinhez kerül. A rézkötés cisztein révén történik ⁴⁹. A ciszteinben gazdag cink- és rézkötő metallothionein döntő szerepet játszik a rézfelszívódás szabályozásában ^{50, 51}. A glutathion(GSH) a rézzel stabil komplexet Cu⁺²-GSH képez és réz donor a metallothionein és a szuperoxid dizmutáz számára. Cink hatására a bél nyálkahártya metallothionein termelődése megnő, ezáltal csökken a nehézfémek felszívódása ⁴⁷.

A réz felszívódásának nincs korlátja. A fölös réz a májból az epével kiválasztódik, aminek három fő útja van: lizoszomális exocytosis, GSH függő út a canaliculáris membránon (organikus anion transzporter, cMOAT révén) és az ATP7B függő exkréció a Golgi rendszer útján. Wilson betegségben a génhiba miatt ez az utóbbi mechanizmus károsodik, és ugyanakkor csökken a cöruoplazmin szintézis és az apo-cöruoplazmin-réz kötődés is.

5.3.2.2 A réz toxikus hatása

Wilson-kórban a plazma szabad rézszintje kb. 0,3 mg/l ⁵². A pozitív réz egyensúly eredményeként a réz felhalmozódik a legtöbb szervben, elsősorban a májban és a központi idegrendszerben. A réz toxicitása a sejtek lipoprotein membránjának oxidálásával, szabadgyök képződés indukálásával függ össze, amely sejtkárosodáshoz, gyulladáshoz, majd végül sejthalálhoz vezet. A réz a mitokondriumot is károsítja és

számos enzim, mint pl. a glutation-reduktáz aktivitását gátolja⁵³. Wilson betegségben a májban a Mallory testekhez hasonló fehérje aggregátumok képződhetnek⁵⁴. A kollagén expresszió fokozódása a májban stimulálja a fibrogenezist, ami végül cirrhosishoz vezet. Számos adat bizonyítja, hogy a réztúterhelés egyik fő támadáspontja a mitokondrium. Az elektronmikroszkópos eltérések is erre utalnak^{55, 56}.

Az idegsejtek és azok működését a réz több úton is károsíthatja: közvetlenül, vagy a MAO-A szelektív gátlása révén. Az újszülöttek mája a felnőttekénél 5-100-szor nagyobb réz tartalmat képes tolerálni. A fölös réz lizoszomális szekvesztrációja lehet az egyik magyarázata a normálistól eltérő intracelluláris réztárolásnak. Az élet első három hónapjában – a cöruoplazmin későbbi érése miatt – a szérum cöruoplazmin és réz szintje alacsonyabb, és a máj réztartalma nagyobb, mint a felnőtteké.

5.3.2.3 Az ATP7B protein szerepe

A Wilson-gén által kódolt 165 kDa tömegű rézkötő protein a Golgi készülékhez lokalizálódik, és kulcsszerepe van a betegség kialakulásában. A fehérjében egyetlen aminosav cseréje miatt a réztranszport zavart szenved. A teljes hosszúságú ATP7B proteinnal proteolitikusan leváló 140 kDa termék kimutatható a mitokondriumokban, ami arra utal, hogy ez a protein szerepet játszik a sejt energia képzésében⁵⁷.

Az ATP7B protein intracelluláris lokalizációja függ a réz mennyiségétől. Ha a májsejtekbe sok réz kerül, akkor ez a protein intracellulárisan a biliaris canaliculus plazmamembránhoz közeli post-Golgi vasicularis compartmentbe vándorol, a réz a szekretoros vesiculumokba és onnan a biliaris canaliculusokba jut, és így a rézfelesleg az epével kiválasztásra kerül. Ez a réz indukálta lokalizáció változás a protein fiziológias működését mutatja^{58, 59}. Alacsony réz koncentráció esetén, egyensúlyi állapotban a réz kisebb mértékben a mitochondriumokba, nagyobb mértékben a Golgi apparátusba transzlokálódik, és beépül az apo-coeruloplasminba, aminek eredménye a coeruloplasmin képződés, ennek segítségével a réz eljut a különböző szervekhez és azokhoz az enzimekhez, amelyeknek működéséhez szükséges.

Wilson betegségben az ATP7B hibás működése miatt a fenti transzport mechanizmus zavart szenved. A szérum cöruoplazmin szint alacsony lesz, a szabad réz toxikus mértékben akkumulálódik elsősor a májban, majd más szervekben, és elindul a szervkárosodások lavinája.

Az ATP7B protein nemcsak a májban, hanem a vesében, placentában, agyban, szívben, tüdőben, izomzatban és pancreasban is expresszálódik. A Wilson kór állati modelljében (Long-Evans Cinnamon patkány) kimutatták az ATP7B lokalizációját a hippocampus, a bulbus olfactorius, a cerebellum, a cerebrális cortex és az agytörzsi magok idegsejtjeiben. Ugyanezen a helyeken nagy mennyiségű rezet is ki lehetett mutatni, ami arra utal, hogy a kóros ATP7B-protein kapcsolatos a lokális rézfelhalmozódással és a Wilson kórban előforduló cerebrális manifesztációkkal⁶⁰. Ugyanakkor a neuropszichiátriai abnormitások javulása májtranszplantáció után azt jelezheti, hogy a primer genetikai defektus a májban van és a májátültetés elősegíti a réz mobilizálását az extrahepatikus helyekről. Kayser-Fleischer gyűrű eltűnését is megfigyelték májátültetés után^{61, 62}.

5.4 Klinikai megjelenés

Wilson kórban a klinikai kép igen változatos, alapvetően három típus különíthető el: tünetmentes, hepatológiai, illetve neuropszichiátriai megjelenés. Ezen kívül egyéb ritka manifesztációk ismeretesek.

Bár a genetikai hiba már születéskor jelen van, a réz felhalmozódásához és így a klinikai tünetek megjelenéséhez hosszabb idő kell. A felhalmozódás a májban kezdődik, így könnyen érthető, hogy először a májbetegség jelentkezik. Ezért a gyermekkorban és kamaszkorban manifesztálódó Wilson betegség leggyakrabban májbetegség formájában mutatkozik. A legfiatalabb leírt Wilson kóros májbeteg két éves volt⁶³.

A betegek életkora az első tünetek megjelenésekor, illetve még inkább a diagnózis felállításakor igen változatos. A hemolízis általában 7-14 éves korban jelenik meg, a fulmináns májelégtelenség 5-33 éves korban, a neuropszichiátriai tünetek megjelenése pedig a második-negyedik évtizedre tehető (medián életkor hepatológiai tünetek esetén 18, neuropszichiátriai manifesztációban pedig 24 év). Irodalmi ritkaságként olyan Wilson beteg esetét is leírták, aki a diagnózis felállításakor több, mint 70 éves volt⁶⁴.

5.4.1 Hepatológiai megjelenés

Gyermekkorban a hepatológiai manifesztáció a leggyakoribb, főként ebben a korban minden tisztázatlan eredetű májbetegség háttérében fel kell, hogy merüljön Wilson-kór lehetősége is.

A májbetegség skálája széles, a Wilson-kór bármilyen akut vagy krónikus májbetegség képében megjelenhet. Okozhat tünetmentes transzamináz enzimszint emelkedést, steatosist, fibrosist, krónikus hepatitiszt vagy cirrhosist, de sajnos sokszor tragikus módon okozhatja az addig egészségesnek hitt fiatalok akut, szubakut vagy fulmináns májelégtelenségét.

Nagy esetszámú májbiopsziás mintával dokumentált vizsgálatban a krónikus hepatitis prevalenciája 28%, a cirrhosis hepatis 33%, míg a steatosist/fibrosist hepatis 24% volt ³⁷. Shah és munkatársai több, mint 100 Wilson betegre kiterjedő vizsgálatában a hepatikus manifesztáció arányát 51%-nak találták ³⁵. Czlonkowska vizsgálatában közel hetven lengyel Wilson beteg vizsgálata kapcsán a májbetegség előfordulási gyakorisága csupán 11% volt ³⁸.

5.4.1.1 Akut májbetegség előfordulása

A fulmináns hepatitis viszonylag ritka, de igen súlyos betegség, ami általában serdülőkorban, vagy fiatal felnőtt korban szokott előfordulni, gyakran fatális. Fulmináns májelégtelenségről a súlyos akut hepatitis azon formájában beszélünk, amikor az icterus kialakulását követően nyolc (mások szerint két⁶⁵) héten belül hepatikus encephalopathia alakul ki olyan betegben, akinek korábban nem volt ismert májbetegsége. Az ennél hosszabb idő alatt kialakuló encephalopathia esetén szubfulmináns májelégtelenségről beszélünk⁶⁶.

Az akut májelégtelenség egy komplex, több szervet érintő betegség, amely a májat ért végzetes károsodás következtében alakul ki, és rövid idő alatt mély icterus, coagulopathia és encephalopathia kíséri, sokszor terminális veseelégtelenséggel ⁶⁷. Klinikai tünetek széles skáláját hozhatja létre, amelyeket elsősorban az etiológia, a beteg életkora és a kórkép kialakulásáig eltelt időtartam határoz meg. A hyperacut, acut és subacut kifejezés az encephalopathia fellépéséig eltelt időre utal (7 nap, 7-28, illetve több, mint 28 nap). Jellemző, hogy az alkalikus foszfatáz szint alacsony, és hogy a súlyos májelégtelenség ellenére a transzaminázok csak mérsékelten emelkednek.

A szérum réz paradox módon magas, aminek az a magyarázata, hogy a necrosis miatt nagy mennyiségű réz szabadul ki a májsejtekből. Ez a szabad toxikus réz okozza a Coombs-negatív haemolitikus anaemiát, ami hepatitis esetén mindig fel kell hívja a figyelmet Wilson betegségre.

Bár a Wilson-kór ritka betegség, de a fulmináns hepatitis miatt akut májtranszplantációs listára helyezett betegek 6-12%-ánál fordul elő.

A fulmináns májelégtelenség prognózisának megítélésére számos pontrendszer használatos⁶⁶. Legszélesebb körben világszerte a King's College kritériumokat használják, amely elkülöníti az acetaminophen indukálta és az egyéb okból kialakult májelégtelenséget.

5.4.2 Neuropszichiátriai megjelenés

Az igen változatos idegrendszeri, illetve pszichiátriai tünetek leggyakrabban a második évtizedben jelennek meg, de előfordulhatnak serdülőkor előtt, és felléphetnek negyven éves kor felett is. Nagyobb esetszámú tanulmányok szerint a neurológiai tünetek megjelenésének aránya 44-88% között változik^{35, 37, 38}.

Az idegrendszeri megbetegedés kezdeti tünetei igen enyhék és nem specifikusak a Wilson-kórra. Leggyakoribb a subcorticalis magvak károsodása miatti beszéd- és mozgászavar, a tremor, choreiform és athetoid mozgások. Sokszor juvenilis Parkinson betegség vagy sclerosis multiplex a téves diagnózis, és csak később derül ki a rézanyagcsere zavara^{68, 69}. A ritkább manifesztációk közül az epilepszia kb. 5 %-ban fordul elő, de leírtak már hypokalaemiás periodikus paralízist és malignus neuroleptikus szindrómát is^{70, 71}.

A pszichés tünetek sorában előfordul személyiségfejlődési zavar, irritabilitás, kiszámíthatatlan viselkedés, agresszivitás, dementia, az iskolai és szellemi teljesítmény csökkenése, szorongás, depresszió, mániás-depressziós psychosis. A hypersomniát, mint a Wilson-kór tünetét munkacsoportunk írta le elsőként⁷².

5.4.3 Egyéb szervi manifesztációk

5.4.3.1 Szemészeti eltérések

A leggyakoribb szemészeti tünet, a Kayser-Fleischer gyűrű, képződését arany barnás vagy zöldes-barna pigmentlerakódás okozza a cornea hátsó felszínéhez közel, a Descemet membránban.

5.4.3.2 Renalis manifesztáció

Az elsődleges vese manifesztáció kivételesen ritka. Wilson kórbán a vesében a rézakkumuláció százszorosa is lehet a normálisnak. Proteinuria, glycosuria, phosphaturia, aminoaciduria, mikroszkópos haematuria mind előfordulhatnak.

Wilson-kóros betegekben a vese vérátáramlása és a glomerularis filtráció jelentősen csökkent, és úgy tűnik, hogy ezen eltérések mértéke az alapbetegség fennállásával és annak súlyosságával arányos⁷³. A tubuláris szekréciós kapacitás is csökkent az előrehaladott esetekben.

A hypercalcuria nemcsak vesekövességet, hanem a renális kalcium- és foszfátvesztés útján renalis osteodystrophiát is okozhat^{74, 75}. A renalis tubularis acidosis hozzájárulhat a nephrocalcinosis kialakulásához. Isostenuriát is leírtak.

Fulmináns hepatitisben, vagy végstádiumú cirrhosisban előforduló veseelégtelenség a májbetegség következménye⁶⁷.

5.4.3.3 Haemolysis

Wilson-kórbán a haemolysis intracorpularis. A kórosan magas szabad rézkoncentráció miatt a vörösvérsejtek membránstabilitása megváltozik, az erythrocytamembrán transzportenzimeinek aktivitása csökken, a glutationszint alacsonyabb, haemolysis alakul ki^{76, 77}. A hirtelen fellépő, súlyos hemolítikus epizód mögött sokszor a fulmináns májelégtelenség áll. Gyermekek, illetve fiatal felnőttek korban ismeretlen okból kialakuló hemolítikus anaemia esetében gondolnunk kell Wilson-kórra.

5.4.3.4 Csont és mozgásrendszeri eltérések

Wilson-kórbán viszonylag gyakoriak a csont-, ízületi, mozgásrendszeri eltérések. A betegek fiatal életkora ellenére előfordulhat osteoporosis, osteomalacia, a csontok demineralizációja, subarticularis cysták, spontán törések, korai degeneratív arthritis, polyarthralgia^{78, 79, 80}. A pathológiás elváltozások ugyan nem specifikusak, az ízületekben a rézkoncentráció emelkedett⁸¹.

Wilson-kórbán a csonttömegre, a csontok ásványianyag tartalmára és a csont minőségére vonatkozó méréseket munkacsoportunk végzett először⁸². A betegek 43%-ának csökkent csontdenzitása, 38%-ának osteoporosisa volt. A csont minőségi változására utaló csont ultrahang paraméterek közül a frekvencia-függő intenzitás-

gyengülés (BUA) érték a betegek egy harmadában kisebb volt az egészséges kontrollokénál (Z score < -2,0).

A BMD csökkenés mechanizmusát tovább vizsgálva munkacsoportunk jelentősen magasabb szérum osteoprotegerin, valamint magasabb β -CTx szintet mért Wilson kórban, az egészséges kontrollokhoz, és a WHO kritériumok szerint osteopeniás, de egyébként egészséges személyek csoportjához képest is. A magas OPG szint lehet az emelkedett β -CTx szint által jelzett fokozott csontlebontást kompenzáló mechanizmus következménye annak ellenére, hogy az OCN szint nem volt magasabb. Másik lehetőség, hogy az OPG egy része nem az osteoblastokból, hanem egyéb sejtekből, mint például a fibroblastokból, limfocitákból, endoteliális sejtekből származik.

5.4.3.5 Kardiológiai eltérések

A szívizomban a rézlerakódás jelei kevésbé találhatók meg, ennek ellenére felléphet congestiv szívelégtelenség, szívizom hypertrophia, fokális gyulladás, különböző nem specifikus ritmuszavarok.

5.4.3.6 Bőr és köröm eltérések

Előfordul barna bőrpigmentáció, különösen az alsó végtag feszítő oldalán, acanthosis nigricans, kékes körömelszíneződés.

5.4.3.7 Endokrin eltérések

Az endokrin zavarok egy része a már kialakult májbetegséggel lehet kapcsolatban, így a késleltetett pubertás, a primer vagy secunder amenorrhoea. Előfordulhat diabetes mellitus, exocrin pancreas insufficiencia, hypoparathyreosis.

Terhesség és Wilson-kór

Wilson-kórban normális terhesség kiviselhető, a gyógyszeres terápia folytatásával^{83, 84}. A születendő gyermek nagy valószínűséggel csak hordozni fogja a Wilson-kórt okozó génmutációt, azon ritka esettől eltekintve, amikor az édesapa is hordozó, illetve Wilson beteg.

5.5 Genotípus-fenotípus összefüggések

Bár kiterjedt vizsgálatok folynak a genotípus-fenotípus összefüggések felderítésére, eddig még kevés a bizonyíték az egyes mutációk és a betegség klinikai megjelenési formáinak kapcsolatára. Legtöbb adat a H1069Q mutációval kapcsolatban gyűlt össze.

Ilyen mutáció esetén, homozigóta esetben a betegség általában kevésbé súlyos, a neurológiai tünetek dominálnak, általában 20 éves kor után jelentkeznek. A gén funkció teljes károsodásával járó insertio, deletio esetekben, vagy compound heterozygotákban, a tünetek korábban, átlagosan 7,2 éves korban kezdődnek.

6 CÉLKITŰZÉSEK

Nemzetközi viszonylatban is jelentős számú magyarországi betegen folytattam a munkacsoportunk által évekkal ezelőtt megkezdett adatfeldolgozást. A magyarországi Wilson betegek új, ritkább mutációinak felkutatását a legtöbb exonra kiterjedő szekvenálással nemzetközi együttműködésben végeztük a Prof. Ferenci Péter által vezetett bécsi Wilson laboratóriummal.

Munkámban az alábbi kérdésekre kerestem a választ:

1. A Wilson-kór magyarországi genetikai feltérképezése:

- Magyarországi Wilson betegek körében milyen arányban van jelen a H1069Q pontmutáció?
- **Különböznek-e a magyarországi Wilson-betegek adatai összehasonlítva a szomszédos országok, valamint a távolabbi népek adataival?**

2. A H1069Q mellett a ritkább génmutációk vizsgálata magyarországi Wilson-kóros betegek körében:

- Az *ATP7B* génnek a H1069Q mutáció mellett **milyen új, ritkább mutációk azonosíthatók** a magyar Wilson-kóros betegek vérmintáiban?

3. A genetikai tényezők és a klinikai tünetek közötti összefüggések vizsgálata:

- Van-e összefüggés a különböző **genotípus és a betegség klinikai megjelenése között?**
- Milyen **gyakorlati klinikai jelentősége** van a **génmutáció vizsgálatoknak** Wilson-kórban?
- Milyen a magyarországi Wilson populáció klinikai megoszlása?

4. Akut májelégtelenség előfordulásának felmérése magyarországi Wilson-kóros betegekben:

- **Milyen arányban fordul elő akut májelégtelenség** a magyarországi Wilson-betegek körében? Hány esetben került sor **májtranszplantációra** a **Wilson-kór miatt?** Ezen betegeknek milyen a **prognózisa?**
- Az érintett betegeknek milyen a genotípusa? Van-e esetleg összefüggés a klinikai megjelenés és az *ATP7B* gén mutációi között?

7 BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

7.1 Vizsgált személyek

Munkacsoportunk a Wilson-betegség gyanújával hozzánk küldött személyek és hozzátartozóik összesen mintegy ezer vérmintáját vizsgálta 1999 óta, a Magyarországon leggyakoribb H1069Q mutációra nézve. A további mutációkat csak azon betegek és hozzátartozóik esetében kutattuk, akik a klinikai tünetek és a laboratóriumi eltérések együttes értékelése alapján (nemzetközi Wilson pontrendszer segítségével) nagy valószínűséggel Wilson betegek.

A SE Transzplantációs és Sebészeti Klinikával, az I. Sz. Gyermekgyógyászati Klinikával, a Szent László Kórházzal és a Heim Pál Kórházzal együttműködve vizsgáltuk és feldolgoztuk a Wilson-kór okozta májelégtelenség miatt transzplantált, illetve a májátültetésre váró betegek adatait.

A fulmináns májelégtelenség prognózisának megítélésére a nemzetközi pontrendszereket vettük figyelembe, melyek közül a legismertebbeket az alábbi táblázat szemlélteti ⁶⁶.

1. táblázat. Az akut májelégtelenség prognosztikai kritériumai

| | |
|--|---|
| King's College kritériumok Acetaminophen túladagolás: Egyéb okból kialakult akut májelégtelenség: | Art. pH<7,3 vagy $\left\{ \begin{array}{l} \text{PT}>100\text{s} \\ \text{se kreat.}>3,4\text{mg/dl} \\ 3\text{-}4.\text{ fok. HE} \end{array} \right.$ PT>100s és INR>6,7 vagy az alábbiak közül legalább három: - kedvezőtlen etiol. (nonA-nonB hep., gyógyszerreakció) - icterus>7 nap a HE előtt - 10 és 40 év közötti életkor - bilirubin>17,4mg/dl |
| Cliché kritériumok | <30 év: V faktor < 20% vagy V. faktor < 30% és 3-4. fok. HE |
| Szérum Gc szint | A széteső hepatocyták által felszabadított, actinhoz kötött scavenger protein (nem széles körben elérhető) |
| Szérum AFP szint | Az 1-3. napig fokozatosan emelkedő szint korrelációt mutat a túléléssel |
| Májbiopszia | Csak a 70% necrosis jelent különbséget |

PT: prothrombin idő, HE: hepaticus encephalopathia, INR: international normalized ratio

7.1.1 Wilson betegek

Szászhuszonhat családból 142 Wilson-kóros beteget vizsgáltunk (köztük 128 indexbeteg és 14 kezelt beteg testvér vagy más családtag), valamint nyolc fulmináns májelégtelenségben elhunyt beteg adatait dolgoztuk fel post mortem, akiknek vérmintája nem állt rendelkezésünkre. Ezt a nemzetközi szempontból is jelentős számot az tette lehetővé, hogy mint a betegséggel kiemelten foglalkozó hepatológiai centrumhoz, az egész országból küldték hozzánk a kollégák a betegeket, illetve vérmintáikat, amit itt külön is megköszönünk nekik.

A betegek közül 81 volt férfi és 61 nő. Átlag életkoruk a tünetek fellépésekor: 19 ± 9 év, a diagnózis idején: 22 ± 10 év. Ebből is látható, hogy az első tünetek megjelenésétől a helyes diagnózis megszületéséig sajnos évek telnek el. Az adatok elmezése során megállapítottuk, hogy egy-egy esetben az első tünetek után több, mint 10 évvel később derült ki, hogy a betegnek Wilson-kórja van. Éppen ezért mi is számos fórumon hívtuk fel a figyelmet arra, hogy minden tisztázatlan eredetű májbetegség és neurológiai vagy pszichiátriai tünetegyüttes esetén gondolni kell Wilson betegségre.

66 beteg hepatológiai, 70 beteg neurológiai tünetekkel jelentkezett. Az indexbetegek 61 testvérét vizsgáltuk, közülük negyvenheten voltak egészségesek. A diagnózis felállításakor a nemzetközi konszenzus konferencia alapján elfogadott, 2003-ban publikált pontrendszert és ajánlásokat vettük figyelembe, csak a Wilson pontrendszernek megfelelő betegek (≥ 4 pont) kerültek be vizsgálatunkba^{85,86,87}.

Az egyes klinikai vizsgálatokba bevont betegek száma változó, hiszen az észlelt betegek közül sokan meghaltak az évek során, és egy adott vizsgálat idején nem mindenki volt elérhető, illetve bevonható.

7.1.2 Kontroll csoport

Az egészséges kontroll egyének között szerepeltek önkéntes véradók ($n=60$, f/n: 44/16, életkor: 24-62 év), orvostanhallgatók, klinikai kollégák és olyan személyek, akiknek részletes klinikai vizsgálata során nem igazolódott a tanulmány szempontjából releváns betegsége. A rejtett betegségek kizárására a vérmintákat rutin biokémiai teszteknek vetettük alá – vizsgáltuk a szérum cöroloplazmin és ferritin szintet is.

7.2 Módszerek

7.2.1 Klinikai laboratóriumi paraméterek

7.2.1.1 Rutin biokémiai laboratóriumi vizsgálatok

A májfunkciós tesztek standard eljárás szerint végeztük. A szérumbilirubin, alkalikus foszfatáz, aszpartát-aminotranszferáz (AST), alanin-aminotranszferáz (ALT), γ -glutamil-transzferáz (GGT), kalcium, foszfor, albumin, kolinészteráz mérése Olympus AU600 (Olympus Co Ltd. Shizouka, Japan) autoanalyserrel történt 37 °C-on.

A prothrombin meghatározást STA-Coag Control N+P kit és STA Analyzer segítségével (Diagnostica Stago, Asnieres, France) végeztük.

7.2.1.2 Szérumbőruloplazmin

A szérumbőruloplazmin szint mérése immunturbidimetriás vizsgálattal történt (Tinaquant Ceruloplasmin; Roche, Indianapolis, IN, USA).

7.2.1.3 Szérumbáréz meghatározás

A szérumbáréz meghatározása abszorpciós fotometriás módszerrel (Merckotest, Diagnostica Merck, Darmstadt, Germany) történt.

7.2.1.4 24 órás gyűjtött vizelet

A vizelet rézkiválasztást rézmentes edénybe 24 órán át gyűjtött mintából direkt hígítás után "graphite furnace" atomabszorpciós spektrofotometriával (GFAAS) mértük (referenciaanyagok: Seronorm Urine, Nycomed, Torshov, Norway).

7.2.1.5 D-penicillamin próba

D-penicillamin szedését megelőzően, majd gyógyszeres kezelés megkezdése után (napi 1 g DPA) gyűjtött vizeletmintából meghatározott rézürítés. Diagnosztikus értékűnek tekinthető, ha a forszírozott 24 órás vizelet rézürítés meghaladja az 1600 μg -ot, vagy az alapérték legalább 10-szeresére növekszik.

7.2.2 Kayser-Fleischer gyűrű kimutatása

Tapasztalt, ezen a téren gyakorlott szemész szakorvos réslámpával vizsgálta a Kayser-Fleischer gyűrű jelenlétét.

7.2.3 A máj szövettani vizsgálata

A máj réztartalmát kvantitatív módszerrel csak a betegek kis hányadában határoztuk meg, mivel a májbiopszia nem része a standard diagnosztikai protokollnak. Azokban a betegekben, akiknek májbiopsziájuk volt, szemikvantitatív rézmeghatározás történt rhodamin festéssel.

7.2.4 Genetikai vizsgálatok

7.2.4.1 DNS izolálása

A genomiális DNS-t EDTA(etilán-diammin-tetraecetsav)-val alvadásgátolt perifériás vénás vérből izoláltuk (Nucleospin Blood QuickPure Test, Macherey-Nagel GmbH, Düren, Germany). Az így szeparált DNS mintát semi-nested PCR-on alapuló RFLP (restrikciós hossz polimorfizmus) módszerrel vizsgáltuk^{36, 37}. A H1069Q negatív vagy heterozigóta mintákat további analízisnek vetettük alá.

7.2.4.2 H1069Q mutáció kimutatása

Ezt a mutációt egy korábban leírt gyors, restrikciós hely specifikus polimeráz láncreakcióval (PCR)³⁷ határoztuk meg. A 14. exon amplifikációjából származó PCR terméket használtuk templátként (célszekvencia) a második PCR során, amelyben hasítási helyet hoztunk létre a vad típusú DNS-en, de nem a mutációt tartalmazó kromoszómán. Itt a Mut1069 primert és a 3348 intronikus primert használtuk. A semi-nested PCR reakciók után a második PCR terméken specifikus hasítást végeztünk *BsiHKA I* nevű restrikciós endonukleáz enzimmel (New England Biolabs, London, UK). A reakcióban csak a vad allél hasítása történt, amelynek eredményeként két féle – 110 és 131 bázispár hosszúságú – DNS szakasz keletkezett. E két különböző nagyságú DNS szakaszt elektroforézis segítségével 9%-os nem-denaturáló poliakrilamid gélen választottuk szét. Ezt követően a DNS-t etidium-bromiddal festettük, majd UV fényű transzillumináció alatt értékeltük az eredményt.

7.2.4.3 Az *ATP7B* gén további mutációinak vizsgálata

A H1069Q negatív vagy heterozigóta mintákat további analízisét végeztük. A DNS mintából először a lehetséges mutációkat vizsgáltuk denaturált HPLC módszerrel (WAVE, Nucleic Acid fragment analysis systems, Cheshire, UK), majd az eredményt szekvenálással erősítettük meg (ABI Prism 310 Genetic Analyzer, Perkin Elmer, Norwalk, USA).

8 EREDMÉNYEK

8.1 Az ATP7B gén mutációinak vizsgálata magyar Wilson-kóros betegek körében

Folhoffer Anikó, Horváth Andrea, Hegedűs Dalma, Firneisz Gábor, Dunkel Kinga, Willheim Claudia, Ferenci Péter, Lakatos Péter László és Szalay Ferenc. **ATP7B génmutációk magyarországi Wilson-kóros betegekben; esetismertetések a betegség változatos klinikai megjelenésére**
Orv Hetil. 2003;144(51):2509-15.

Folhoffer A, Ferenci P, Csak T, Horvath A, Hegedus D, Firneisz G, Osztoivits J, Kosa JP, Willheim-Polli C, Szonyi L, Abonyi M, Lakatos PL and Szalay F. **Novel mutations of the ATP7B gene among 109 Hungarian patients with Wilson's disease**
Eur J Gastroenterol Hepatol 2007;19(2):105-11.

Összesen 35 különböző mutációt találtunk. Negyvennyolc beteg volt homozigóta (beleértve a negyven H1069Q homozigóta beteget), 44 beteg DNS mintájában két különböző génmutációt sikerült azonosítani (compound heterozigóta); 123 betegben találtuk meg legalább az egyik mutációt. 19 betegnek még nem sikerült megtalálni a betegséget okozó mutációját.

8.1.1 A H1069Q mutáció előfordulási gyakorisága magyarországi Wilson-kóros betegekben

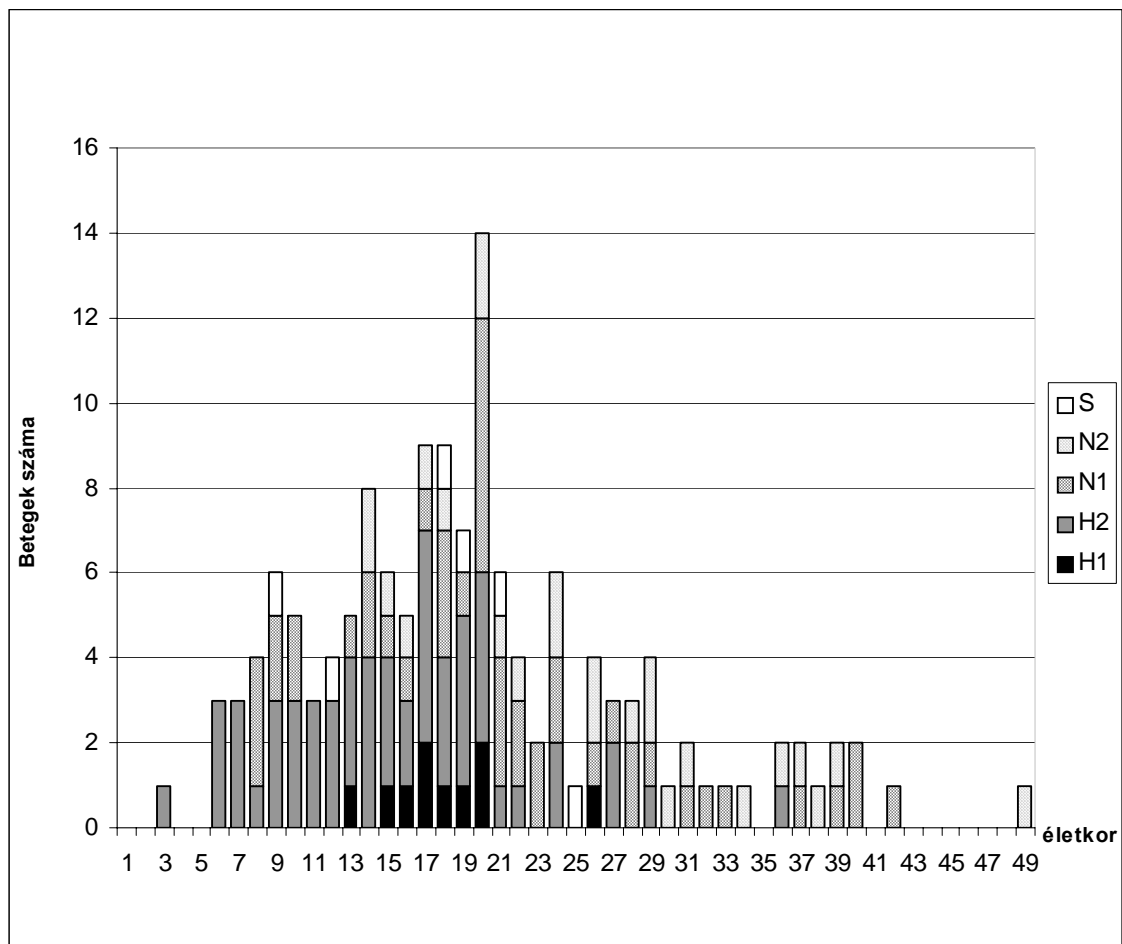
A leggyakoribb H1069Q pontmutáció 142 betegből 100-ban (70%) volt jelen, így ennek a mutációnak a kimutatása a magyarországi Wilson betegek diagnosztikájának fontos eszköze.

Negyven beteg homozigóta (28%), 60 compound heterozigóta (42%), 42 pedig negatív (30%) volt erre a mutációra nézve. A Wilson betegek H1069Q genotípus szerinti megoszlása jól megközelíti a Hardy-Weinberg szabály alapján becsült ekvilibríumot, miszerint a magyarországi 49,3%-os allélfrekvenciával (p) számolva a H1069Q homozigóta (p^2) - compound heterozigóta ($2pq$) - negatív (q^2) betegek becsült száma sorrendben: 35 (24%) - 71 (50%) - 36 (26%). A Hardy-Weinberg ekvilibríum predikciója és a H1069Q mutáció allélfrekvenciája alapján a beteg populációban a compound heterozigóta/homozigóta számított arány $2pq/q^2 = 2 \times (0,493 \times 0,507) / (0,493)^2$

= 2,1. Vizsgálatunkban a H1069Q compound heterozigóta/ homozigóta betegek arányát (60/40=) 1,5-nek találtuk.

8.1.1.1 A magyarországi Wilson betegek klinikai adatai

Vizsgáltuk a 142 Wilson beteget az életkor és manifesztáció szerint az első diagnózis felállításának időpontjában. Az 4. ábrán jól látható, hogy azok a betegek, akikben a Wilson-kór hepatológiai manifesztációval jelentkezett, fiatalabbak az első tünetek megjelenésének idején, mint a neurológiai tünetekkel rendelkezők. Az általunk vizsgált legfiatalabb beteg 3 éves volt és májbetegség tünete miatt került orvoshoz; a legidősebb beteg, 49 éves korában, neurológiai tünetek miatt jelentkezett.



4. ábra A 142 magyarországi Wilson beteg életkor és manifesztáció szerinti megoszlása az első tünetek jelentkezésének időpontjában

Rövidítések: H1: a Wilson-kór krónikus hepatológiai formájának akut manifesztációja, H2: a WD krónikus hepatológiai manifesztációja, N1: májbetegséggel szövődött neurológiai manifesztáció, N2: neurológiai manifesztáció májbetegség nélkül, S: tünetmentes betegek⁸⁵

A 2. táblázat mutatja a H1069Q mutáció jelenléte szerint csoportosított betegek klinikai megjelenését és átlagéletkorukat az első tünet fellépésének idején.

2. táblázat. A magyarországi Wilson betegek megoszlása a H1069Q mutáció jelenléte és a klinikai megjelenés szerint

| | H1069Q homozigóta | H1069Q compound heterozigóta | H1069Q negatív | Σ |
|--|----------------------|------------------------------------|-------------------|-------------|
| Hepatológiai megjelenés | 18/40 (45%) | 29/60 (48%) | 19/42(45%) | 66/142(46%) |
| Neuropszichiátriai megjelenés | 21/40 (52%) | 29/60 (48%) | 20/42(48%) | 70/142(49%) |
| Kayser-Fleischer gyűrű (+/-) | 25/7 (78%) | 32/18 (64%) | 20/17(54%) | 77/122(63%) |
| Átlag életkor az első tünetek megjelenésekor | 20 ± 8 év | 20 ± 8 év | 18 ± 9 év | 19 ± 9 év |

A H1069Q homozigóta betegek közül egynek volt fulmináns májbetegsége (H1), tizenhét betegben a WD krónikus májbetegség képében jelent meg (H2), 15 betegnek a neuropszichiátriai tünetei mellett hepatológiai tünetei is voltak (N1), 6 betegnek pedig csak neurológiai, illetve pszichiátriai tünetei voltak májbetegség nélkül (N2). A H1069Q heterozigóták közül 6 betegben akut, 23-ban krónikus lefolyású májbetegség zajlott, a 29 neuropszichiátriai Wilson beteg közül 18-nak voltak hepatológiai tünetei is. A H1069Q negatív betegek között 3 esetben akut, 16 esetben pedig krónikus májbetegség képében jelent meg a Wilson-kór. A H1069Q negatív betegek közül 12-nek neuropszichiátriai tünetei májkárosodással szövődtek.

Kayser-Fleischer gyűrűt a homozigóta betegek közül 25 (78%), a heterozigóták közül 32 (64%), míg a H1069Q negatív betegek közül 20 esetben (54%) sikerült kimutatni.



5. ábra

Tehát a homozigóta betegek között valamivel gyakoribb volt a neurológiai manifesztáció és a Kayser-Fleischer gyűrű előfordulása.

5. ábra. Kayser-Fleischer gyűrű az egyik magyar Wilson beteg szemén

Májbetegség összesen 111 esetben volt igazolható. A hepatológiai tünetek széles skáláját észleltük a magyarországi betegekben, így tünetmentes transzamináz enzimszint emelkedést, hepatosplenomegaliát, steatosist, fibrosist, krónikus hepatitiszt, cirrhosist, és korábban egészségesnek hitt fiatal felnőttek fulmináns lefolyású májelégtelenségét, amelyről külön alfejezetben részletesebben beszámolunk.

Neurológiai vagy pszichiátriai tünetei összesen 70 betegnek voltak: leggyakoribb a Parkinson-szindróma, tremor, beszéd- és járászavar, ataxia, nyelési nehézség volt, de több beteg esetében is előfordult hypersomnia, szédülés, choreoathetoid mozgászavar, izomgörcsök, epilepsia, migrénes fejfájás, egy-egy betegben pedig torticollis és TIA.

A **pszichiátriai** tünetek közül különböző személyiségzavarok, leggyakrabban depresszió szerepeltek, de előfordult több esetben szuicid kísérlet és drog abusus is. Annak ellenére, hogy Wilson kórban az életet veszélyeztető és az életminőséget rontó tünetek főleg a máj és a neurológiai károsodások következményei, nagyon fontos, hogy megfelelő figyelmet fordítsunk a pszichiátriai tünetekre is, mivel azok előfordulása viszonylag gyakori. A betegek több mint felében mutathatók ki pszichiátriai eltérések, ezért minden beteg esetében óvatos pszichiátriai exploráció szükséges. Fontos tény, hogy a kizárólag pszichiátriai tüneteket mutató Wilson betegeknel a helyes diagnózis sokszor évekkel később derül ki, hiszen a jellegzetes hepatológiai és neurológiai tünetek hiányoznak.

Figyelmet érdemel, hogy több esetben észleltünk **renális érintettséget** a kezelés megkezdése előtt: nephrosis szindrómát, haematuriát, glomerulonephritist, renalis tubularis acidosist és nephrocalcinosis.

Csont, ízületi eltérések – osteopenia, osteoporosis, patológiás törések és ízületi fájdalmak, polyarthropathia.

A munkacsoportunk által korábban végzett neuropathiás vizsgálatokat folytattuk. Wilson kórban a nervus peroneuson az egészségesekhez képest magasabb áramérezet közből értékeket mértünk, ami arra utal, hogy a rézanyagcsere zavar a perifériás idegek működését is károsíthatja.

24 betegnek volt **haemolysise**, közülük nyolc beteg esetében a Wilson-kór krónikus hepatológiai formájának akut manifesztációját észleltük.

Egy fulmináns májelégtelenségben elhunyt fiatal index nőbeteg tünetmentes fiútestvérének emelkedett májenzimértékei és genetikailag is igazolt Wilson-kórja miatt D-penicillaminkezelést kezdtünk. Laboratóriumi értékei rendeződtek, majd néhány évvel később *acut bal kamra elégtelensége* alakult ki, *myocarditist* véleményeztek, ami lehetett a lerakódott réz okozta cardiomyopathia következménye. A beteg azóta már meggyógyult, panaszmentes.

Endocrín eltérések közül a már kialakult májbetegséggel lehetett kapcsolatban a több betegben tapasztalt primer vagy secunder amenorrhoea, két betegben pedig polycystás ovarium syndromát találtunk.

Egyéb ritka manifesztációk közül bőr és körömmeltéréseket észleltünk.

8.1.1.2 Esetismertetések

Példák a betegség változatos klinikai megjelenésére

Az alábbiakban esetek bemutatásával felhívjuk a figyelmet arra, hogy a betegség igen változatos tünetekkel kezdődhet, továbbá, hogy milyen fontos a kezdeti tünetek helyes értékelése, és a testvérek vizsgálata.

J. L. 23 éves informatikus

13 éves korban kezdődő májbetegség, diagnózis csak 10 évvel később a neurológiai tünetek megjelenésekor

A 23 éves férfi, neurológiai tünetek, kézremegés, beszédnehezítettség miatt ideggyógyászati osztályra került juvenilis Parkinson szindróma miatt. A korábbi anamnézis újraértékelése, a kóros máj adatok, alapján merült fel a Wilson kór gyanúja, amit az alacsony caeruloplasmin szint, a Kayser–Fleischer gyűrű pozitivitása és a génmutáció vizsgálat megerősített (H1069Q/T977M compound heterozygota).

Az eset érdekessége és tanulsága, hogy már 10 évvel korábban is voltak olyan klinikai tünetek, aminek alapján gondolni lehetett volna (és kellett volna) a Wilson betegségre.

A betegnek 13 éves koráig semmilyen komoly ismert betegsége nem volt. Akkor gyengeség, jobb bordaív alatti fájdalom, enyhe icterus miatt fordult orvoshoz. A vizsgálatok hepatitisz szindrómát igazoltak, a vírus markerek negatívak voltak. Az ismételt vizsgálatok, a májbiopsziás lelet alapján egyéb okot nem találván autoimmun eredetűnek vélték betegségét, és hosszú éveken át Prednisolon kezelést kapott. Mivel

máj adatai teljesen normálisak lettek, és a szteroid kezelés mellékhatásai is mutatkoztak (a hason a striák azóta is megvannak), a kezelést 6 év után abbahagyták. Ezt követően a fentebb említett neurológiai tünetek jelentkezéséig tünetmentes volt. Érdeemes megemlíteni, hogy a neurológiai tünetekkel egyidőben pszichés tünetek, személyiségváltozás, magatartászavarok is jelentkeztek. Alvászavar, szorongás, időnkénti dühkitörések, depresszió tüneteit a beteg saját maga is észlelte és megélte. Néhány alkalommal kipróbált különböző kábítószerket (marihuánás cigaretta, speed, extasy). Részben ezzel magyarázták tüneteit, noha a beteg rendszeresen egyiket sem fogyasztotta.

A diagnózis felállítását követően megkezdett D-penicillamin kezelés közben a beteg fokozatosan javult, tremora és pszichés tünetek megszűntek, kóros májadatai normálisak lettek, és 6 hónap múltán tünetmentessé vált.

Üzenet: Ez az eset példa arra, hogy minden tisztázatlan eredetű, különösen fiatal korban jelentkező májbetegség esetén gondolni kell a Wilson kór lehetőségére. Az adott esetben természetesen nem lehet kizárni, hogy autoimmun hepatitisz is volt a betegnek, azonban sokkal valószínűbb, hogy már 13 éves korában a toxikus réz-akkumuláció okozta a májbetegséget, és hogy az autoantitest pozitivitás csak mint nem specifikus kísérő jelenség, esetleg a májlaesio másodlagos következménye volt.

B. I. 19 é. nő, egyetemi hallgató

Primer amenorrhoea, enyhén kóros májadatak, 18 éves korban tremor, Wilson diagnózis 19 éves korában

A jól fejlődő, amúgy egészséges leányt 17 éves korában primer amenorrhoea és hirsutismus miatt kezdték vizsgálni. A vizsgálatok során kóros májadatak, splenomegalia, mellékvese adenoma, mérsékelt hyperprolactinaemia, hypothyreosis derült ki. Bromocriptine és Levothyroxine kezelést kezdtek. Egy évvel később kézremegés, és a korábban is meglágyult, szaggatott és elkent beszéd rosszabbodása miatt neurológiai vizsgálatra került sor. Ekkor vetődött fel a Wilson betegség gyanúja, amit az alacsony caeruloplasmin szint, a Kayser-Fleischer gyűrű pozitivitása, és a génmutáció vizsgálat megerősített. A genetikai vizsgálat H1069Q/M769L mutációkat igazolt, tehát a compound heterozigóta mintázat is bizonyítja a Wilson betegséget.

Lehetséges, hogy az endokrin eltérések háttérében is a kóros rézdepozíció áll. A megkezdett D-penicillamin kezelést fokozatos javulás követte. Ugyanazon mutáns allélok a tünetmentes 12 éves testvérben.

Minden Wilson beteg testvérét meg kell vizsgálni akkor is, ha semmilyen tünete nincsen homo- és heterozigóta szűrés céljából. A betegség autoszomális recesszív öröklésmenetéből következik, hogy ha két szülő heterozigóta, akkor 1:4 az esély arra, hogy az utód homozigóta, tehát beteg legyen.

Az itt ismertetett beteg 12 éves húgát megvizsgálva, noha semmilyen panasz nem volt, kóros májadatakat, Kayser-Fleischer gyűrű jelenlétét, és ugyanazt a génmutáció pozitivitást találtuk, mint nővérében. Mindez bizonyította, hogy ő is Wilson betegségben szenved, tehát indokolt a kezelés. Ettől az várható, hogy a betegség progressziója megszűnik, és sohasem alakulnak ki a neurológiai tünetek.

Üzenet:

Endokrin eltérés is lehet a betegség első tünete. Fontos a tünetmentes testvér vizsgálata. Ha homozigóta génmutáció, azaz mindkét allél genetikai hibája igazolható, akkor ez önmagában szükségessé teszi a kezelés megkezdését, amitől a tünetek megjelenésének és a betegség progressziójának megelőzése várható.

S. F. 20 éves egyetemi hallgató

Haemolysis, Bechterew-kór, májcirrhosis, H1069Q/H1069Q homozigóta. Kezelésre lényeges javulás

Már 16 éves korában voltak panaszai. Fáradékonyság, gyengeség miatt vizsgálták, de akkor az ok nem derült ki. 20 éves korában jelentős icterus miatt került kórházba. A vizsgálatok haemolyticus icterust igazoltak. Ekkor került felismerésre Bechterew betegsége is. Fél évvel később májenzim értékeit emelkedettnek találták. Máj adatai fokozatosan rosszabbodtak. Fiatal betegről lévén szó, továbbá a negatív hepatitis vírus markerek, az exogén toxikus hatás hiánya, az autoantitestek negativitása alapján felmerült a Wilson-kór lehetősége, amit az alacsony caeruloplazmin szint, a Kayser-Fleischer gyűrű pozitivitás, a májbiopsziával igazolt cirrhosis és a génmutáció kimutatása megerősített. A beteg H1069Q homozigótának bizonyult. A D-penicillamin

kezelés óta a beteg igen sokat javult, egy éve tartó kezelést követően máj enzim értékei csaknem normálisak. Hemolitikus epizódja azóta nem volt.

Üzenet:

Ez az eset példa arra, hogy haemolysis is lehet az első tünet, továbbá, hogy a májbiopsziás mintában a réz-asszociált protein felszaporodásának hiánya nem zárja ki a betegséget. Az is figyelemre méltó, hogy noha a betegnek még nem voltak neurológiai tünetei, a pozitron emissziós vizsgálat (FDG) a nucleus lentiformisban eltérést mutatott. Joggal feltételezhető, hogy a megkezdett kezelés megelőzte a neurológiai tünetek kialakulását.

K.B. 33 éves sportmenedzser

14 éves korban nem tisztázott eredetű májbetegség, huszonéves korban koordinációs zavarok, anti-Parkinson kezelés, 33 éves korában szuicid kísérlet és a Wilson-kór diagnózisa

A 33 éves sportmenedzser, aki 26 éves kora óta colitis ulcerosában szenvedett, és akit három éve Parkinson szindróma miatt kezeltek, öngyilkossági szándékkal hypót ivott. Toxikológiai osztályra került, ahol gyors és komplex kezeléssel megmentették életét, nyelvcső léziója meggyógyult. A gondos anamnézis felvétel kapcsán kiderült, hogy 14 éves korában kóros májadatakat észleltek, de az eltérés okát nem tudták megállapítani. Akkor aktív sportoló, az országos kajakválogatott tagja volt, később röplabdázott. Huszonéves korában a sportot fokozódó mozgáskoordinációs zavarok miatt abba kellett hagynia, sportmenedzseri képesítést szerzett. Harmincegy éves korától az emocionális labilitás mellett Parkinson szindróma-szerű tünetek, tremor, merevség, beszédzavar jelentkezett, amelyek egyre fokozódtak. Ekkor is észlelték a májadatak kórosságát, de azt időnkénti alkoholfogyasztással magyarázták. Anti-Parkinson gyógyszereket kapott, de állapota nem javult, ezért kísérelte meg az öngyilkosságot.

További vizsgálatok céljából helyezték át klinikánkra. A Wilson-kór diagnózisát a típusos anamnézis, a klinikai kép, az alacsony cöruoplazmin szint, a Kayser-Fleischer gyűrű pozitivitás alapján fel lehetett állítani, amit a génmutáció vizsgálat (H1069Q homozigóta) megerősített.

D-penicillamin kezelés megkezdését követően fokozatos javulás kezdődött. Egy évvel később májadatai már teljesen normálisak voltak, a neurológiai tünetek igen sokat javultak, pszichésen konszolidált, aktívan dolgozik, megnősült. Egészséges gyermekük született, aki csupán hordozza az egyik allélen a Magyarországon leggyakoribb H1069Q génmutációt.

Az eset további érdekessége a colitis ulcerosa és májbetegség együttes előfordulása. A WD kezelésében második vonalbeli szernek számító cink-szulfát kezelés mindkét betegség szempontjából előnyös lehet, azonban esetünkben a cinkkezelés önmagában nem bizonyult elegendőnek.

Üzenet:

A Wilson betegséghez társuló emocionális labilitás öngyilkossági kísérlethez vezethet. A diagnózis felállítása előtt már 20 évvel korábban megvoltak a betegségre utaló jelek. Wilson-kór és colitis ulcerosa együttes előfordulásáról eddig egyetlen közlemény jelent meg⁸⁸. Családtervezéskor a Wilson beteget nem kell eltanácsolni a gyermekvállalástól, de igen fontos a génmutáció vizsgálatot a házastárs esetében is elvégezni.

S.J. 27 éves állattenyésztő és testvérei, S.A.24 éves traktoros, S.T. 16 éves női ruhakészítő

Három Wilson beteg testvér, mindhármukban azonos génmutáció: H1069Q/K844K fs

Üzemorvosi szűrővizsgálat kapcsán derült ki, hogy a 27 éves panaszmentes fiatalember máj adatai kórosak. A vizsgálatok krónikus hepatitist, Wilson betegséget, H1069Q/K844Kfs mutációt igazoltak. D-penicillamin kezelésre a máj leletek sokat javultak. A két, ugyancsak panaszmentes testvérében ugyanazokat a mutációkat lehetett kimutatni, és ezzel a Wilson betegséget bizonyítani, aminek alapján megkezdjük a gyógyszeres kezelést.

Üzenet:

A Wilson kór még 20 éves életkor felett sem mindig okoz panaszt. Az index beteg betegségére szűrővizsgálat kapcsán kiderült kóros májadatak irányították a figyelmet. A másik két testvérnek sem volt panasza.

Ebben a családban mindhárom testvér ugyanazokat a kóros allélokat kapta a megtermékenyítés pillanatában.

8.1.2 Az ATP7B gén további mutációinak előfordulási gyakorisága magyarországi Wilson-kóros betegekben

A 6-20. exonok szekvenálásával további 34 mutációt azonosítottunk, köztük tíz olyan mutációt mutattunk ki magyarországi betegekben, amelyeket eddig még nem közöltek, és a nemzetközi Wilson-gén adatbázisban sem szerepelnek: L517-fs (c1549-1559del11), N676I, H639Y, S693Y, Y715H, M769L, W939C, V1001G, V1039F, P1273S és G1281D (ezeket a mutációkat a 3. táblázatban vastag betűvel emeltük ki). Annak kizárására, hogy ezek az újonnan felfedezett génmutációk nem csak a magyarországi populáció polimorfizmusát tükrözik, a 6., 7., 8., 13., 18. és 20. exonokat 60 egészséges magyar kontroll egyénben is megvizsgáltuk. E mutációkat egyikőjük vérmintájában sem találtuk meg.

Összesen 60 betegben fordult elő az *ATP7B* génnek a H1069Q-tól eltérő mutációja, amelyek közül 26 misszensz, 1 nonszensz és 1 splice szubsztitúció, valamint 6 deléció volt, ez utóbbiból öt kereteltolódással járó, ún. frameshift mutáció (1, 2, illetve 11 bázishiánnyal), végül a V1217-1218L mutáció esetében 6 bázis esett ki, tehát a leolvasási keret nem tolódott el.

A 34 mutáció közül az R778G mutációt kivéve a többi mutációt már korábban megfigyelték európai betegekben. Az R778G mutációt török betegekben írták le⁹². Az R778L mutáció pedig a távol-keleti populációkban gyakori (28-44%)⁸⁹, a közép-európai országokban viszont nem. Tudomásunk szerint az általunk leírt beteg volt az első európai, aki ezt a mutációt hordozza.

3. táblázat

Az *ATP7B* gén H1069Q-tól eltérő mutációval rendelkező magyarországi Wilson betegek klinikai jellemzői. *A nemzetközi Wilson-gén adatbázisban még nem szereplő új mutációkat vastag betűvel emeltük ki.*

A táblázatban csak azok a WD betegek szerepelnek, akik a H1069Q-tól eltérő mutációjuk (is) van. A 40 H1069Q homozigóta beteget, és azt a 25 H1069Q compound heterozigóta és 20 negatív beteget, akiknek a mutációit még nem sikerült azonosítani, ebben a táblázatban nem tüntettük fel.

| Mutációk | | N | Exon | Manifesztáció | KFR +/- | Életkor (a tünetek fellépésekor) |
|--|---------------|---|-------|------------------|------------|--|
| HOMOZIGÓTÁK | | | | | | |
| IVS4-1g>A | IVS4-1g>A | 2 | 4 | H2/S | 1/1 | 9,12 |
| K844K-fs | K844K-fs | 1 | 10 | S | - | 19 |
| R832K | R832K | 1 | 13 | H2 | - | 13 |
| I857T | I857T | 1 | 10 | N1 | + | 42 |
| E1064K | E1064K | 1 | 14 | H1 | + | 15 |
| P1134P-fs | P1134P-fs | 1 | 15 | H2 | + | 17 |
| Q1351X | Q1351X | 1 | 20 | N2 | + | 14 |
| COMPOUND HETEROZIGÓTÁK | | | | | | |
| L517-fs | H1069Q | 1 | 4/14 | N1 | - | 19 |
| R616W | H1069Q | 1 | 5/14 | N1 | - | 37 |
| H639Y | P767P-fs | 1 | 6/8 | N1 | ? | 21 |
| S693Y | H1069Q | 1 | 7/14 | N2 | + | 18 |
| G710S | H1069Q | 1 | 8/14 | H2 | - | 11 |
| Y715H | H1069Q | 1 | 8/14 | N1 | + | 10 |
| M769L | H1069Q | 2 | 8/14 | N1/S | 2/0 | 12, 17 |
| R778G | V1039F | 1 | 8/13 | N1 | + | 8 |
| K844K-fs | P840L | 2 | 10/10 | N2/N1 | 1/1 | 24, 20 |
| K844K-fs | H1069Q | 5 | 10/14 | 4 H2, 1 N1 | 3/2 | 9, 16, 20, 24, 27 |
| A874V | H1069Q | 2 | 11/14 | H1/H2 | + | 20, 22 |
| W939C | H1069Q | 2 | 13/14 | H2/N2 | -/+ | 7, 16 |
| R969Q | H1069Q | 2 | 13/14 | Mindketten H2 | 1/1 | 7, 18 |
| T977M | H1069Q | 2 | 13/14 | N1/S | 1/1 | 13, 25 |
| V1001G | H1069Q | 1 | 13/14 | N2 | + | 39 |
| A1003T | H1069Q | 1 | 13/14 | H2 | - | 36 |
| E1064K | H1069Q | 2 | 14/14 | H2/N2 | 1/1 | 10, 29 |
| P1134P-fs | H1069Q | 3 | 15/14 | 1 N1, 1 H1, 1 H2 | 1/2 | 14, 16, 20 |
| P1134P-fs | L1305P | 1 | 15/19 | H2 | + | 17 |
| V1217-1218Ldel6 | H1069Q | 1 | 17/14 | H2 | - | 10 |
| P1273S | H1069Q | 1 | 18/14 | N1 | + | 21 |
| P1273L | H1069Q | 1 | 18/14 | H2 | - | 19 |
| G1281D | H1069Q | 1 | 18/14 | H2 | - | 9 |
| L1305P | H1069Q | 1 | 19/14 | N2 | + | 28 |
| G1341V | Q1351X | 1 | 20/20 | H2 | - | 3 |
| Q1351X | H1069Q | 5 | 20/14 | H1:2; H2:2 N1:1 | 1/4 | 8, 15, 17, 20, 31 |
| V1364V-fs | T977M | 1 | 20/13 | H2 | - | 6 |
| COMPOUND HETEROZIGÓTÁK (a második mutáció még ismeretlen) | | | | | | |
| G591D | ? | 1 | 5/? | S | + | 12 |
| N676I | ? | 1 | 7/? | H1 | - | 18 |
| P767P-fs | ? | 1 | 8/? | H2 | - | 12 |
| R778G | ? | 1 | 8/? | N1 | + | 9 |
| K844K-fs | ? | 1 | 10/? | H1 | + | 17 |
| V890M | ? | 1 | 11/? | H2 | - | 10 |
| G1281D | ? | 1 | 18/? | H2 | + | 12 |
| G1341V | ? | 1 | 20/? | N1 | + | 16 |

Rövidítések: H1: a Wilson-kór krónikus hepatológiai formájának akut manifesztációja, H2: a WD krónikus hepatológiai manifesztációja, N1: májbetegséggel szövődött neurológiai manifesztáció, N2: neurológiai manifesztáció májbetegség nélkül, S: tünetmentes betegek⁸⁵

8.1.2.1 Új mutációk

A 6. *exonon* két új mutációt találtunk. Az **N676I** (2030A>T) mutációt egy 18 éves nőbetegben azonosítottuk, akit dekompenzált májcirrhosis miatt transzplantáltak. A **H639Y** mutációt pedig egy 21 éves vidéki asszony DNS mintájában fedeztük fel, akinek hepatológiai és neurológiai tünetei voltak.

A 7. *exon* **S693Y** mutációját találtuk egy H1069Q compound heterozigóta nőbetegben, akinek neurológiai tünetei korán jelentketek.

Az **M769L** mutációt egy 18 éves compound heterozigóta indexbetegben és tünetmentes testvérében mutattuk ki, az indexbeteg májbetegsége neurológiai tünetekkel és primer amenorrhoeával szövődött. A 8. *exon*nak egy másik mutációját, az **Y715H**-t azonosítottuk egy 18 éves H1069Q compound heterozigóta betegben, akinek hemolitikus anémiája, tremora és kompenzált májcirrhosisa volt.

W939 pontmutációt (13. *exon*) találtunk egy 7 éves fiúgyermekben, ízületi fájdalmakkal és krónikus hepatitiszsel. Szintén a 13. *exon*nak a **V1001G** mutációját detektáltuk a Wilson kór késői formájában egy 39 éves fitaleMBER esetében, akit több alkalommal kezeltek pszichiátriai osztályon paranoid személyiségzavarral. Neuroleptikum adása mellett súlyos mozgászavara lépett fel (tremor és hypokinesis), a szemész szakorvos Kayser-Fleischer gyűrűt írt le.

Gyermekkori epilepszia, súlyos beszéd- és járászavar, tanulási nehézségek miatt került orvoshoz az a 8 éves kislány, akinek ekkor már krónikus májbetegsége is volt, réslámpavizsgálattal Kayser-Fleischer gyűrűt találtunk. A később genetikailag is igazolt Wilson-kórja a kezelésre nem reagált megfelelően, akut májelégtelensége miatt korán elvesztettük. A H1069Q negatív beteg DNS mintájának szekvenciaanalízis eredménye már post mortem érkezett meg: a nemzetközi irodalomból ismert R778G mutáció mellett a korábban nem ismert **V1039F** mutációt azonosítottuk a 14. *exonon*.

A 18. *exonon* két korábban nem ismert mutációt mutattunk ki: a **P1273S** ugyanazon a helyen van, mint a korábban már török és magyar betegekben is leírt P→L szubsztitúció⁹⁰. A P1273S mutációt egy 21 éves férfi betegben találtuk, akinek neurológiai, hepatológiai tünetei és Kayser-Fleischer gyűrűje volt. A **G1281D** mutációt egy 12 éves fiúgyermekben azonosítottuk, akinek neurológiai tünetekkel szövődött

májbetegsége volt, valamint ugyanezt a mutációt hordozta egy 9 éves G1281D/H1069Q compound heterozigóta indexbeteg is.

Végül a 20. exon **G1341V** mutációját mutattuk ki egy fiatal nőbetegben, akinek már májcirrhosisa volt és 3 éves kislányában, akinek mája már szintén károsodott, a biopsziás vizsgálat alapján. A gyermek genotípusa: G1341V/Q1351X. Az említett G1341V mutációt időközben Cox és munkatársai is leírták ukrán betegekben ¹². Az édesanyának kezelés ellenére progrediáló májcirrhosisa miatt májtranszplantációra került sor, a gyermek D-penicillamine kezelés mellett jól van.

8.1.3 Családvizsgálatok

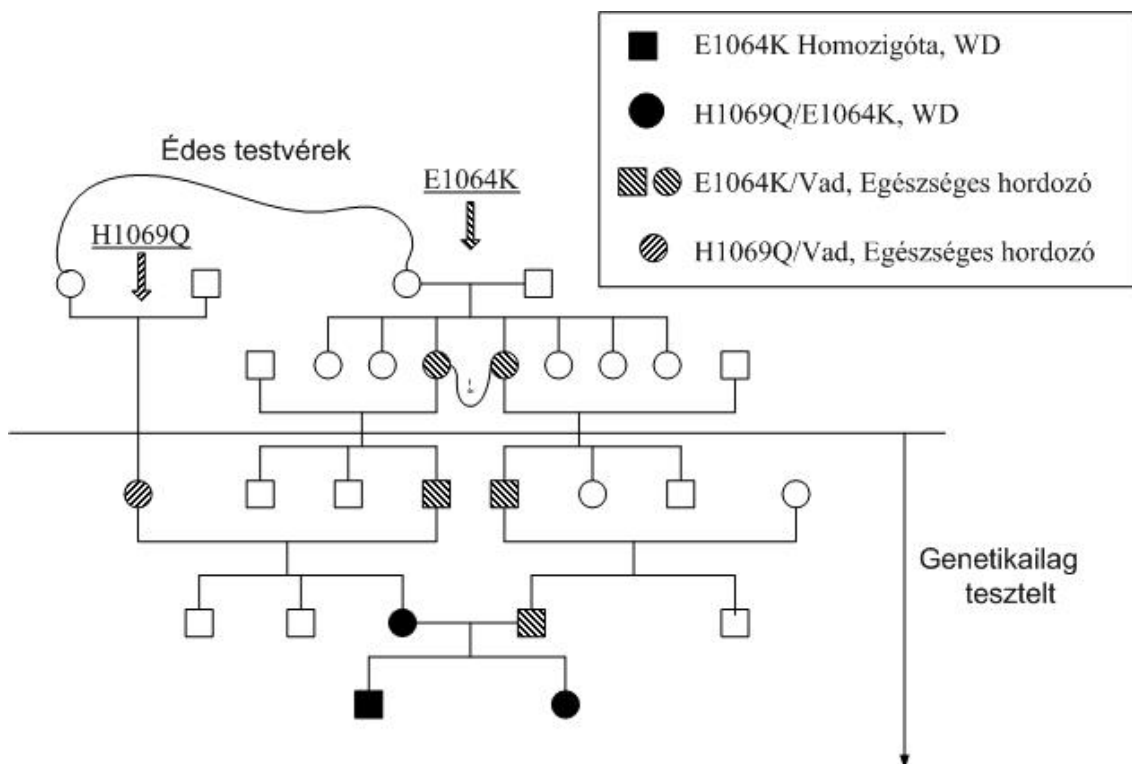
Firneisz G, Szonyi L, Ferenci P, Willheim C, Horvath A, **Folhoffer A**, Tulassay Z, Szalay F. **The other mutation is found: follow-up of an exceptional family with Wilson disease.**

Am J Gastroenterol. 2004 Dec;99(12):2504-5.

Tekintettel a betegség hereditár jellegére minden indexbeteg esetében a család szűrővizsgálatát is elvégeztük, ahol erre módunk volt, különös gonddal az elsőfokú oldalági rokonok (testvérek) szűrésénél. Vizsgáltuk az index betegek leszármazottait is, akik nagy valószínűséggel egészséges hordozók. Azokban a családokban, ahol az indexbetegnek csak az egyik vagy egyik betegségkókozó mutáció sem ismert, a genetikai vizsgálat értéke korlátozott, hiszen a lehetséges mutációk száma szinte korlátlan, itt a gondos klinikai és laboratóriumi vizsgálatok, az utánkövetés szerepe kiemelkedő.

Az autoszomális recesszív öröklésmentből következően azt várnánk, hogy a Wilson kór megjelenése két egymástutáni generációban kivételesen ritka. A 142 magyar beteg közül három ilyen családot is vizsgáltunk, vagyis ez az eset nem is olyan ritka, mint gondoltuk.

Egy 32 éves Wilson kóros anya 16 éves fián sikeres májtranszplantáció történt Wilson kór okozta májelégtelenség miatt. Génmutáció vizsgálatával igazoltuk, hogy a 12 éves, tünetmentes leánytestvérben az anyával egyező mutációk találhatóak, tehát ő is Wilson beteg.

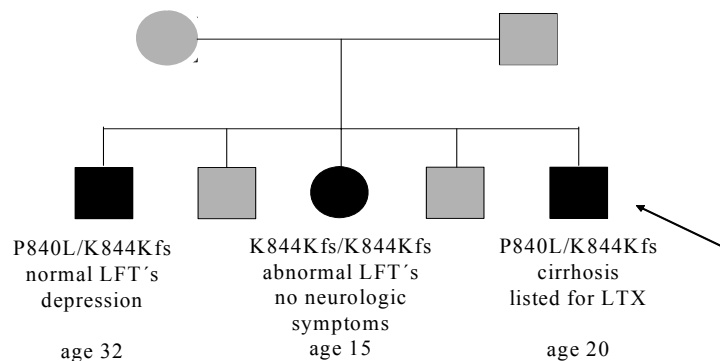


7. ábra Wilson-kór két egymás utáni generációban. A családon belüli rokonházasság igazolódott.

Figyelembe véve a genetikailag bizonyított diagnózist, és azt, hogy az anya is tünetmentes volt ebben az életkorban, elkezdtek a d-penicillamin kezelést. A kezelés megkezdése óta 6 év telt el, a leány tünetmentes. A transzplantált fiú is jól van, rézanyagcseréje normális. Haplotípus analízissel is bizonyítottuk, hogy a családi halmozódás oka vérrokonság volt.

Egy erdélyi származású magyar családban a 20 éves indexbeteg férfi mozgászavar, gyengeség, lábdagadás miatt került orvoshoz, az emelkedett transzmináz értékek, hepatomegalia hátterében Wilson-kór okozta májcirrhosis állt. Kayser-Fleischer gyűrűje pozitív volt, génmutáció vizsgálat P840L/K844K-fs compound heterozigóta genotípust igazolt. Sajnos az addigra már dekompenzálódott májbetegsége a kezelés ellenére rövid idő alatt a beteg halálát okozta. Az ilyenkor szükséges családvizsgálat során depressziós, más tünetet nem mutató leánytestvérének DNS mintájában ugyanezt a mutációt találtuk, bizonyítva az ő esetében is a Wilson-kórt. A testvéreket tovább vizsgálva azonban egyik fiútestvérében K844K-fs homozigóta

genotípust találtunk, vagyis nagy valószínűséggel legalább az egyik szülő szintén Wilson beteg kellett, hogy legyen. A további vizsgálatok, esetleges vérrokonság felderítése ebben a családban még folyamatban van. A beteg testvéreket azóta kezeljük, jól vannak.



6. ábra. Wilson-kór két testvérben különböző két különböző mutáció jelenlétével

Szürke jelölés: még nem történt meg a genetikai analízis. A nyíl az index betegre mutat

Az új, korábban nem ismert mutációkat ismertető alfejezetünkben részletesebben számolunk be annak a fiatal nőbetegnek és kisleányának esetéről, ahol szintén két egymás utáni generációban jelent meg a Wilson-kór.

8.2 Akut májbetegség előfordulása magyarországi Wilson-betegekben

Hemolízis és májelégtelenség Wilson-kórban

A 142 általunk vizsgált Wilson-kóros beteg, valamint a nyolc fulmináns májelégtelenségben elhunyt fiatal közül – akiknek tüneteit szintén nagy valószínűséggel Wilson-kór okozta – huszonnyolcnak volt súlyos fokú májelégtelensége, köztük 19 betegnek (15 nő és 4 férfi, átlag életkor 16 ± 4) akut vagy szubakut májelégtelensége zajlott. Az elhunyt fiatalok adatait post mortem dolgoztuk fel, közülük több betegnek a testvérében igazolódott a Wilson-kór.

Wilson-kór miatt összesen 14 sikeres májátültetést végeztek a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján, a leghosszabb túlélő transzplantált Wilson-kóros beteg esetében már 9 év telt el az átültetés óta, a beteg jól van, cöruoplazmin

értéke normális, neurológiai tünete nincs, és a Kayser-Fleischer gyűrű eltűnt. Az összesen huszonhárom metabolikus etilógiájú májátültetett (köztük 14 Wilson-kóros) beteg túlélése a Kaplan-Meier becslés szerint nem különbözött szignifikáns mértékben az egyéb ok miatt transzplantált májbetegektől ($p=0,6$).

4. táblázat **A májátültetésen átesett magyarországi betegek túlélési adatai.**

| Túlélés | Metabolikus (n=23) | Nem metabolikus (n=298) |
|----------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 éves | 78% | 77% |
| 3 éves | 73% | 71% |
| 5 éves | 48% | 66% |

A tizenkilencből 12 beteg halt meg májkómában, többen a várakozó listán voltak már, néhány esetben a diagnózis annyira későn született meg, hogy még listára sem kerültek. Extrahepatikus szövődményként Coombs negatív haemolysis a májelégtelen betegek között 15 esetben, az egész beteganyagot tekintve összesen 25 esetben volt kimutatható. Ez a gyakoriság lényegében megegyezik a nemzetközi irodalomban leírt előfordulással.⁹¹

Vizsgáltuk az akut májelégtelenségben szenvedők genotípusát is: egy fiatal nőbeteg homozigóta volt a H1069Q mutációra nézve, öt nő és egy férfi beteg heterozigóta formában hordozta a H1069Q mutációt, ketten H1069Q/Q1351X compound heterozigóták. A H1069Q negatív betegek között 3 férfi és 3 nő volt. Mindannyian külön-külön családból származtak. A 4. táblázatban jól látható, hogy a Magyarországon leggyakoribb mutációra nézve homozigóta betegek aránya az akut májelégtelenségben szenvedők között kisebb volt.

5. táblázat **A H1069Q mutáció előfordulása akut májelégtelenségben (H1), összehasonlítva az összes magyarországi Wilson betegben észlelt arányszámokkal.**

| | H1069Q homozigóta | H1069Q heterozigóta | H1069Q negatív |
|-------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| H1 | 1/13 (8%) | 6/13 (46%) | 6/13 (46%) |
| Teljes populáció | 40/142 (28%) | 60/142 (42%) | 42/142 (30%) |

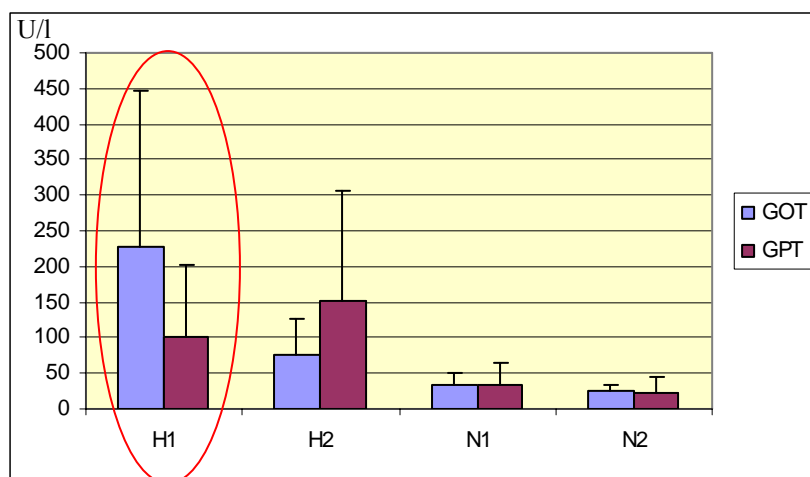
Az 6. táblázatban tüntettük fel az egyes betegek genotípusát, életkorukat a tünetek fellépésének időpontjában és a legfontosabb klinikai diagnózisokat, tüneteket.

6. táblázat. Az akut májbetegségben szenvedő Wilson betegek genetikai és főbb klinikai jellemzői

| Genotípus | Kor | Tünetek, diagnózisok |
|------------------|-----|---|
| H1069Q/H1069Q | 19 | akut májelégtelenség |
| H1069Q/P1134P-fs | 16 | OLT |
| H1069Q/Q1351X | 17 | akut fulmináns hepatitis, haemolysis, gastritis, bulbitis, HRS, exitus |
| H1069Q/Q1351X | 20 | CH, haemolysis, icterus |
| H1069Q/? | 13 | acut liver failure, haemolyticus anaemia, thrombocytopenia, sec. amenorrhoea, meglágyult EKG |
| H1069Q/? | 26 | szülés előtt és azután is haemolyticus icterus, acut fulmináns májelégtelenség, cirrhosis hepatis |
| H1069Q/A874V | 20 | OLT |
| R832K/R832K | 13 | májelégtelenség, krónikus progresszív májbetegség |
| E1064K hom | 15 | cirrhosis hepatis decompensata, OLT |
| K844K-fs/? | 17 | OLT |
| N676I/? | 17 | CH miatt OLT!, postop. Haematoma, HRS, MOF, exitus |
| R778G/? | 9 | CAH, CH, 12ék fél o. mozg. eltérés, tremor, izomgörcs, nehezített beszéd, choreoathetoid ballisztik |
| H1069Q neg | 8 | 8 ék. steatosis hepatis, 11 ék. haemolysis, N és H tünetek, fulmináns májelégtelenség, exitus letalis |

Laboratóriumi paraméterek:

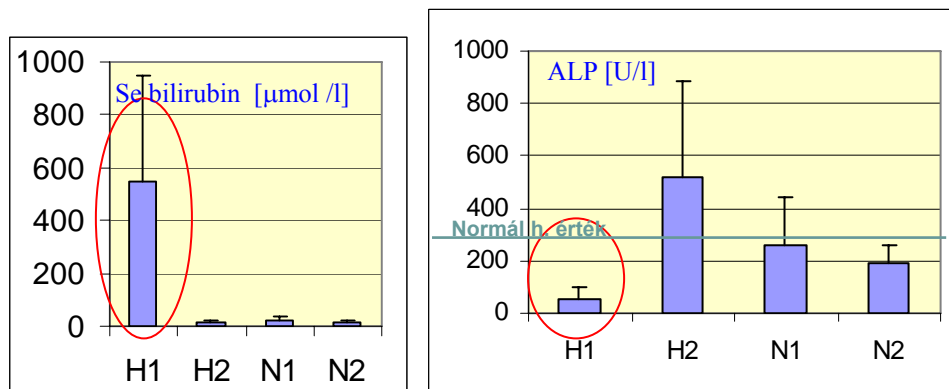
Az akut májelégtelenség képében megjelenő Wilson-kórban a *transzamináz* szint emelkedett volt. A 6. ábrán jól látható, hogy a szérum GOT értéke nagyobb, a GPT pedig kisebb, mint a krónikus hepatológiai forma kezelt eseteiben, illetve a neuropszichiátriai tünetekkel járó formában. A GOT/GPT arányt a magyarországi akut májelégtelen betegekben 2,25-nek találtuk, míg ugyanez az arány a krónikus hepatológiai formában, illetve a neurológiai tüneteket is mutató betegek esetében $\approx 0,5$ és 1 volt.



8. ábra. Szérum GOT és GPT érték a különböző manifesztációjú Wilson betegekben

A Coombs negatív hemolitikus anémiának megfelelően akut májelégtelenségben (H1) a szérum (döntően direkt) *bilirubin* szintje emelkedett. Az *alkalikus foszfatáz* értéke a többi Wilson betegénél jóval alacsonyabb, a normál érték alsó tartományában volt. A szérum *cöruoplazmin* szintje a WD okozta akut májbetegségben közelít a normál

értékhez: $0,16 \pm 0,08$, míg a krónikus májbetegséggel járó formában $0,12 \pm 0,1$, (hepatológiai tünettel nem rendelkező) neurológiai manifesztációjú betegekben pedig $0,06 \pm 0,06$ g/l.



9. ábra. A különböző manifesztációjú Wilson betegek szérumbilirubin és alkalikus foszfatáz értékei

9 MEGBESZÉLÉS

9.1 Az ATP7B gén mutációinak előfordulási gyakorisága magyar Wilson-kóros betegek körében

Adatainkkal *kiegészítettük korábbi megfigyeléseinket* ³⁶, immár *142 magyar beteg vizsgálatával* és a legtöbb exonra kiterjedő mutációanalízissel. A 35 azonosított mutáció tükrözi Magyarország genetikai heterogenitását. A 35 mutáció között nyolc olyan volt, amelyeket eddig csak török, olasz vagy albán betegekben írtak le. Lehetséges, hogy e mutációk magyarországi jelenléte a 150 éves török megszállás genetikai következménye.

A *mutációanalízis fontosságát* mutatja a 7. táblázat, amelyben a betegeket aszerint osztottuk fel, hogy a nemzetközi Wilson pontrendszer szerint hány pontot kaptak kizárólag a típusos klinikai és laboratóriumi eltérések alapján, majd a következő oszlopokban részleteztük, hogy immár a genetikai vizsgálattal kiegészítve hány további betegben igazoltuk a Wilson-kór diagnózisát. A korábbi standard módszerek alkalmazásával (csak klinikai és biokémiai vizsgálatok alapján) 44 hepatológiai (66/142) és 7 neurológiai (70/142) manifesztációjú beteg (WD score<4) diagnózisát nem sikerült volna felállítani a genetikai tesztek alkalmazása nélkül, míg a genetikai analízis ennek az 51 betegnek (36%) az esetében a további diagnosztikai vizsgálatokat feleslegessé tette.

7. táblázat. **A magyarországi Wilson betegek megoszlása a nemzetközi Wilson pontrendszer (a mutáció vizsgálat eredménye nélkül) és a azonosított mutációik száma szerint**

** A WD pontrendszer alapján* ⁸⁵, *figyelmen kívül hagyva a mutációanalízis eredményét*

A halvány szürkén sátozott terület kiemeli azokat a betegeket, akiknek a diagnózisa vagy egyedül a klinikai tünetek (WD score \geq 4), vagy egyedül a genetikai tesztek alapján igazolható volt

Rövidítések: H1: a Wilson-kór krónikus hepatológiai formájának akut manifesztációja, H2: a WD krónikus hepatológiai manifesztációja, N1: májbetegséggel szövődött neurológiai manifesztáció, N2: neurológiai manifesztáció májbetegség nélkül, S: tünetmentes betegek

| Típusos klinikai tünetek vagy eltérések* | n | Betegségkókozó mutációk száma | | |
|--|------------|-------------------------------|-----------|-----------|
| | | Kettő | Egy | Nulla |
| WD score \geq 4 | 87 | 47 | 19 | 21 |
| N1 és N2 | 63 | 36 | 14 | 13 |
| H1 és H2 | 22 | 10 | 4 | 8 |
| S | 2 | 1 | 1 | 0 |
| WD score = 3 | 22 | 8 | 13 | 1 |
| N1 és N2 | 5 | 0 | 5 | 0 |
| H1 és H2 | 17 | 8 | 8 | 1 |
| S | 0 | 0 | 0 | 0 |
| WD score \leq 2 | 33 | 33 | 0 | 0 |
| N1 és N2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| H1 és H2 | 27 | 27 | 0 | 0 |
| S | 4 | 4 | 0 | 0 |
| Összes beteg: | 142 | 88 | 32 | 22 |
| N1 és N2 | 70 | | | |
| H1 és H2 | 66 | | | |
| S | 6 | | | |

Másfelől néhány esetben a molekuláris vizsgálatokkal megrövidítettük az első tünetek és a diagnózis felállítása közt eltelt időintervallumot. Mutációanalízis segíthet azoknál a betegeknél, akiknél a Wilson-kór jellegzetes tünetei és laboreltérései hiányoznak, így a hepatológiai formában és az indexbetegek tünetmentes testvéreiben. A WD gén mutációinak jelentős száma miatt azonban a mutációanalízis mégsem lehet alkalmas elsővonalbeli szűrésre.

Magyarországon is a *H1069Q* a leggyakoribb mutáció, hasonlóan a legtöbb Alpoktól északra és keletre fekvő európai országhoz: a Wilson betegek 70%-a hordozza a *H1069Q* mutációt, ami 49%-os allélfrekvenciát jelent. Munkánk betegszáma elég nagynek tűnik a *H1069Q* mutáció frekvenciájának felmérésében ahhoz, hogy kiegyensúlyozza a mintavételi hibát, ezt tükrözi a csekély eltérés a Hardy-Weinberg ekvilibrum analízis alapján számolt értékektől. A *H1069Q* homozigóta irányba történő relatív „csúszás” (skew) más populációkban még nagyobb arányban megfigyelt jelenség³⁵. Ennek magyarázata saját populációnkban is az lehet, hogy a compound heterozigótákban a *H1069Q* mellett a mások mutáció bizonyos esetekben a betegségnek egy enyhébb vagy nem jellegzetes megjelenési formáját hozhatja létre.

Adataink összhangban vannak azzal a feltevessel, hogy a H1069Q mutáció évszázadokkal ezelőtt úgynevezett *founder effektus* révén valahol Kelet-Európában keletkezett. Európa géntérképére tekintve jól látható, hogy ennek a mutációnak a gyakorisága keletről nyugat felé, valamint északról délre haladva fokozatosan csökken. A gyakoriság legnagyobb Lengyelországban³⁸ és Németország keleti részén²⁴, Magyarországon az ausztriaihoz hasonlóan valamivel kisebb, még a brit⁹⁶ és nem szardíniai mediterrán⁹² betegekben kisebb, csupán 17, illetve 13 %-ban fordul elő. A szardíniai és ázsiai populációkban teljesen hiányzik³⁴.

Más mutációk, például a 8-as exon mutációinak allélfrekvenciája Európában nyugat-keleti irányban csökken⁴³. A mi adataink is ezt erősítik meg. A *második leggyakoribb mutáció a K844K-fs* volt (10. exon).

A 23 korábban már ismert mutáció^{12, 24, 34, 40, 92, 93} mellett **10 új mutációt** – L517-fs (c1549-1559del11), N676I, H639Y, S693Y, Y715H, M769L, W939C, V1001G, V1039F, P1273S és G1281D – találtunk ebben a populációban, amelyek még nem szerepelnek a Wilson-gén nemzetközi adatbázisában. Ezek az új mutációk valóban betegség okozó mutációk, de a pontos hibafunkció felkutatására további vizsgálatok szükségesek. Ugyanez igaz a legtöbb jól ismert mutációra^{12, 94, 95}. A nyolcas exonon, ahol szintén különösen gyakoriak a mutációk az európai⁴² és távol-keleti⁴³ betegekben, két új mutációt találtunk. Az M769L mutáció ugyanabban a pozícióban van, ahol korábban már írtak le aminosavcserét észak-európai (M769V)^{28, 35}, brit (M769R)⁹⁶ és japán betegekben (M769I)⁹⁷. Ennek eredményeképpen konzervatív aminosavcsere jön létre a Tm4 transzmembrán régióban, ami előreláthatóan nem károsítja súlyosabb mértékben a protein harmadlagos szerkezetét, de a protein működésére indirekt hatása lehet, például a splicing mechanizmus szabályozásában vagy az RNS stabilitásában⁹⁶. Az N676I mutáció a poláros neutrális aszparagin nemkonzervatív aminosavcseréjét okozza a szintén poláros neutrális izoleucinra a Tm1 régióban. Az S693Y mutáció az ATP7B protein 693. pozíciójában lévő szerin konzervatív szubsztitúcióját eredményezi tirozinra a Tm2 transzmembrán régióban, a poláros neutrális töltetlen (hidroxil) oldallánc poláros neutrális aromásra cserélődik, ami várhatóan súlyosan károsítja a protein terciér szerkezetét is. Szintén a Tm2 régióban az Y715H mutáció következtében a poláros neutrális oldalláncú tirozin poláros bázikus oldalláncú hisztidinre cserélődik, ami megváltoztathatja a konformációt. A W939C egy

másik konzervatív aminosavcserét hoz létre a Tm8 régióban, a kissé poláros neutrális aromás triptofán a szintén kissé poláros neutrális kéntartalmú ciszteinre cserélődik. A 18. exon két mutációja az ATP “hinge” régiójában okoz aminosavcserét: a P1273S az apoláros neutrális prolin konzervatív aminosavcseréjét eredményezi a poláros neutrális szerinre az 1273. pozícióban, a G1281D pedig az apoláros neutrális glicin (nincs oldallánca) és a poláros savas aszpartátsav cseréjét okozza. Végül a G1341V missense pontmutáció a Tm8 transzmembrán régióban hozza létre a glicin→valin konzervatív aminosavcserét (mindkettő apoláros neutrális).

A különböző mutációk jelentősége még nem ismert. A betegek életkor szerinti megoszlása azt mutatta, hogy a hepatológiai manifesztációjú Wilson betegek fiatalabbak voltak az első tünetek megjelenésekor, mint azok, akiknek neurológiai tünetekel rendelkeztek. Ez összhangban van mások megfigyeléseivel, és a betegség patomechanizmusát tükrözi, hiszen a máj az első rézakkumuláló szerv ^{86, 98, 99, 100}. Mindemellett a betegség klinikai megjelenése nem hozható összefüggésbe egy bizonyos mutációval, bár a különböző mutációk több ponton is befolyásolhatják az intracelluláris rézforgalmat. A Q1351X nonsense mutáció csonka proteint hoz létre, amiből hiányzik a karboxi-vég utolsó 55 aminosava, és csökkenti a nukleotid affinitást, utalva ezeknek a maradék aminosavaknak a nukleotid koordinációban betöltött szerepére.

A Wilson-kór diagnosztikája továbbra is nehézséget jelent a legtöbb hepatológiai manifesztációjú beteg esetében, mivel itt a Kayser-Fleischer gyűrű és a típusos laboratóriumi eltérések hiányozhatnak ¹⁰¹. A szérum cöruoplazminsztje normális lehet. A Wilson-kór fulmináns formájában a cöruoplazmin értéke emelkedett is lehet, mivel az akut fázis protein. Másrészt viszont előfordulhat, hogy szintje alacsonyabb az egyéb etiológiájú májsejtkárosodás esetében is ^{102, 103}. Még a máj réztartalmának meghatározása is félrevezető lehet¹⁰⁴. Ezért továbbra is a klinikai tünetek, a biokémiai tesztek és a génmutáció azonosításának együttes értékelésére kell támaszkodnunk, mint ahogy a kutatók nemzetközi csoportja által javasolt pontrendszer is ajánlja ^{42, 105}.

Az általunk talált különböző *mutációk relatív nagy száma* megerősíti az általános álláspontot a mutációanalízis szerepéről a Wilson-kór diagnosztikájában. A ritka mutációk igen nagy száma (mára több, mint 350 mutációt írtak le) korlátozza a mutációvizsgálat mindennapos klinikai használatát. Napjainkban a mutációanalízis csak

olyan indexbeteg családtagjainak szűrésére alkalmas, akinek mutációja ismert; egyéb esetben a haplotípus analízis segít.

Klinikai jellegzetességek

A magyarországi Wilson betegek *életkora* az első tünetek idején igen változatos volt, hasonlóan más országok adataihoz, átlag életkoruk az első tünetek idején 22 ± 10 év. Azok a betegek, akiknek Wilson-kórja hepatológiai formában jelentkezett, fiatalabbak voltak az első tünetek idején (H1: 16 ± 4 , H2: 15 ± 6 év), mint a neuropszichiátriai tünetekkel rendelkezők (N1: 22 ± 9 , N2: 26 ± 9 év). Az általunk leírt legfiatalabb beteg csak egy évvel volt idősebb a nemzetközi irodalomból ismert legifjabb Wilson betegnél.

A hepatológiai, illetve a neuro-pszichiátriai megjelenés vizsgálatunkban közel egyenlő arányban fordult elő. Ez az arány sem tért el a nemzetközi irodalmi adatok alapján várható fenotípus eloszlástól. Mind a hepatológiai, mind a neuro-pszichiátriai tünetek széles skálán mozogtak.

Családvizsgálataink során teszteltük a testvérek (ritkábban az unokatestvérek), szülők, leszármazottak DNS mintáját is az indexbetegben talált mutációkra. Recesszív módon öröklődő betegség lévén szokatlan, hogy Magyarországon három olyan családot is találtunk, amelyben a betegség két egymást követő generációban fordul elő.

Hat teljesen tünetmentes testvért diagnosztizáltunk kizárólag mutációvizsgálattal. Abban az esetben, ha az indexbeteg mindkét allélján sikerült a betegséget okozó mutációt azonosítani, ugyanezeket teszteltük a testvéreikben is. Mindkét allélon talált betegségokozó mutáció (a pontrendszerben 4 pont) elegendő a Wilson-kór diagnózisához, még aktuálisan jelen lévő klinikai tünetek nélkül is. Szeretnénk kihangsúlyozni, hogy minden testvér fiatalabb volt az indexbetegnél, aki az ő korukban szintén tünetmentes volt még. A Wilson beteg *családtagok* (egy kivétellel az index betegek testvérei) közül háromnak manifest májbetegsége, háromnak neurológiai tünetei voltak már a diagnózis idején.

A genetikai vizsgálat még preklinikai stádiumban bizonyította a Wilson-kór diagnózisát 14 testvérben, hat családban, az indexbetegek családtagjai közül 47 testvér esetében pedig ki tudtuk zárni a betegséget.

Az egy családon belüli testvérek hasonló klinikai megjelenése arra enged következtetni, hogy az ATP7B mutációktól eltérő genetikai faktornak is szerepe lehet a Wilson-kór klinikai manifesztációjában ¹⁰⁶. Ennek vizsgálatához azonban sokkal nagyobb esetszámú kutatásra lenne szükség.

Nemek szerinti megoszlásban a teljes Wilson populációban a férfiak domináltak, míg az akut májelégtelenségben szenvedők al csoportjában a nőbetegek voltak többen. Az a tény, hogy a fulmináns májbetegséggel járó formában a fiatal nőbetegek nagyobb arányban vettek részt, alátámasztani látszik azt a Maier-Dobersberger által leírt megfigyelést ³⁷, miszerint a fulmináns lefolyású Wilson betegség legtöbbször röviddel a menarche után lép fel. Feltételezhető, hogy a női nemi hormonoknak kiváltó szerepük lehet a progresszív májkárosodás kialakulásában. A női hormonok az enyhe cholestasis útján is súlyosbíthatják a Wilson betegséget. Állatkísérletes adatok szerint a szexuáliszteroidok a réz indukálta hepatitis progresszióját fokozzák ¹⁰⁷.

A magyarországi Wilson betegekben az *akut májelégtelenség* előfordulását viszonylag gyakran találtuk és azt tapasztaltuk, hogy több betegben is H1069Q heterozigóta genotípussal társult. További vizsgálatok szükségesek a Q1351X/H1069Q genotípus jelentőségének tisztázására akut májelégtelenségben.

A Wilson-kór az akut májelégtelenség egyik lehetséges, bár ritka oka, minden tisztázatlan eredetű májbetegség esetén gondolni kell Wilson-kór lehetőségére. Figyelemfelhívó jelek lehetnek a társuló Coombs-negatív hemolitikus anémia, GOT/GPT hányados > 4, alacsony vagy alig mérhető alkalikus foszfatáz szint, ALP/bilirubin < 2. Ez esetben, mint korábban írtuk, további nehézséget jelent az esetek csaknem 15%-ában normális szérumbilirubin szint, valamint a Kayser-Fleischer gyűrű és a neurológiai tünetek gyakori hiánya. A betegség kezelése az időben megkezdett kelátképzőkkel és ortotopikus májtranszplantációval lehetséges, azonban a sikeres kezeléshez a betegség diagnózisának a lehetőségekhez képest korai felállítása létfontosságú ¹⁰⁸.

Kayser-Fleischer gyűrű a H1069Q homozigóta betegek között gyakrabban fordult elő – közel 80%-ban – míg a compound heterozigóták körül-belül kétharmadában, a negatív betegeknek pedig alig több, mint a felében volt megfigyelhető.

A különböző mutációk jelentősége még nem ismert. Nem találtunk egyértelmű genotípus-fenotípus összefüggést, de ennek további tisztázására nagyobb esetszámú vizsgálatra van szükség.

Esetismertetéseinkben néhány példa segítségével felhívtuk a figyelmet a betegség igen változatos klinikai megjelenésére, kiemelve, hogy:

- Minden tisztázatlan eredetű májbetegség esetén, különösen fiatal korban, gondolni kell Wilson-kór lehetőségére, aspecifikus auto-antitest pozitivitás téves irányba terelheti a gondolkozást, bár a két betegség együtt is jelen lehet.
- Endokrin eltérésis lehet az első tünet, így pl. primer vagy sekunder amenorrhoea.
- Mindig nagyon lényeges a tünetmentes testvérek vizsgálata is, hiszen az ő esetükben a kockázat 25%.
- Haemolysis is lehet az első tünet, főként fiatal betegekben, hepatológiai formában.
- A rézasszociált protein hiánya nem zárja ki a Wilson-kór lehetőségét.
- A Wilson betegséghez társuló emocionális labilitás öngyilkossági kísérlethez vezethet. A Wilson-kór és colitis ulcerosa munkánkban is leírt együttes előfordulásáról eddig egyetlen közlemény jelent meg ¹⁰⁹.
- A májtranszplantáció akut májelégtelenség esetén életmentő, Wilson-kór esetében a sikeres májátültetés egyben végleges gyógyulást eredményező beavatkozás.
- A normális szérumbilirubin szint és a Kayser-Fleischer gyűrű hiánya nem zárja ki a Wilson-kór lehetőségét.

Összefoglalva az *ATP7B* génnek 35 különböző mutációját azonosítottuk magyarországi Wilson betegekben, amelyek közül leggyakoribb a H1069Q mutáció volt. Tíz új, a Wilson-gén adatbázisban nem szereplő mutációt találtunk. Megfigyeléseink alátámasztják, hogy a genetikai analízis segít a diagnózis megállapítani vagy megerősíteni és elkerülni a felesleges invazív vizsgálatok – beleértve a májbiopszia és a kvantitatív réz meghatározás – elvégzését.

10 ÚJ EREDMÉNYEK ÉS AZOK GYAKORLATI JELENTŐSÉGE

- Országos összefogás megszervezésével **nemzetközi szempontból is jelentős számú, 142 Wilson-kóros beteg adatainak elemzésével** kiegészítettük korábbi megfigyeléseinket. Megállapítottuk, hogy **az első tünet és a betegség diagnózisa között** átlagosan hosszú idő, **évek telnek el**. Munkacsoportunk tevékenysége is hozzájárult, hogy ez az idő ma már egyre rövidebb.
- Adataink alapján **megerősítettük, hogy Magyarországon is a H1069Q a leggyakoribb mutáció**, hasonlóan a legtöbb Alpoktól északra és keletre fekvő európai országhoz: **a Wilson betegek 70%-a hordozza a H1069Q mutációt, ami 49%-os allélfrekvenciát jelent.**
- A 6-20. exonok szekvenálásával **további 34 mutációt azonosítottunk**, köztük **tíz olyan mutációt mutattunk ki magyarországi betegekben, amelyeket eddig még nem közöltek, és a nemzetközi Wilson-gén adatbázisban sem szerepelnek: L517-fs (c1549-1559del11), N676I, S693Y, Y715H, M769L, W939C, V1001G, V1039F, P1273S és G1281D.** Az összesen 33 mutáció között **nyolc** olyan volt, amelyeket eddig **csak török, olasz vagy albán betegekben írtak le.** Lehetséges, hogy e mutációk magyarországi jelenléte a 150 éves török megszállás genetikai következménye.
- **A génmutáció vizsgálatok gyakorlati klinikai jelentősége** különösen nagy az **index beteg testvéreinek esetében**, mert mindkét allél hibájának kimutatása biztos diagnózist jelent, és kezeléssel meg lehet előzni a tünetek jelentkezését. Mindezt számos beteg példájával bizonyítottuk.
- **A mutációanalízis segítségével a testvérek, családtagok esetében a Wilson-kór diagnózisa már preklinikai stádiumban felállítható**, sokszor még a laboratóriumi módszerekkel sem észlelhető eltérések idején. Az **indexbeteg mindkét mutációjának ismeretében az egészséges testvérekben** pedig nagy valószínűséggel **kizárható** a betegség lehetősége.
- **Nemek szerinti megoszlásban** a teljes Wilson populációban **a férfiak domináltak**, míg az **akut májelégtelenségben** szenvedők alcsoportjában a **nőbetegek voltak többen.** Feltételezhető, hogy a női nemi hormonoknak kiváltó szerepük lehet a progresszív májkárosodás kialakulásában.

- A betegek életkor szerinti megoszlása azt mutatta, hogy **a hepatológiai manifesztációjú Wilson betegek fiatalabbak** az első tünetek megjelenésekor, mint azok, akiknek neurológiai tünei vannak.
- A magyarországi Wilson betegekben **az akut májelégtelenség előfordulását viszonylag gyakorinak** találtuk és azt tapasztaltuk, hogy több betegben is H1069Q heterozigóta genotípussal társult.
- Az akut májelégtelenség egyik lehetséges, bár ritka oka a Wilson-kór, ezért **minden tisztázatlan eredetű májbetegség esetén gondolni kell Wilson-kór lehetőségére** is, különös tekintettel arra, hogy a Wilson-kór akut májelégtelenséggel járó formájában az esetek csaknem 15%-ában normális a szérum cöruoplazmin szint, a Kayser-Fleischer gyűrű és a neurológiai tünetek gyakran hiányoznak.
- **Három** olyan kivételesen ritka **család esetét ismertettük, ahol a Wilson kór két egymásutáni generációban** is megjelent.

11 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezéshez közvetlenül kapcsolódó saját közlemények listája:

Dolgozatok:

1. **Folhoffer A**, Horváth A, Hegedűs D, Firneisz G, Dunkel K, Willheim C, Ferenci P, Lakatos PL és Szalay F. **ATP7B génmutációk magyarországi Wilson kóros betegekben; esetismertetések a betegség változatos klinikai megjelenésére**
Orv Hetil. 2003 Dec 21;144(51):2509-15.
2. Nagy J, Vincze Z, **Folhoffer A**, Horváth A, Csák T, Zelkó R. **A Wilson-kór patomechanismusa és gyógyszeres kezelése.**
Acta Pharmaceutica Hungarica 2003; 73(4): 237-241.
3. Firneisz G, Szonyi L, Ferenci P, Willheim C, Horvath A, **Folhoffer A**, Tulassay Z, Szalay F. **The other mutation is found: follow-up of an exceptional family with wilson disease.**
Am J Gastroenterol. 2004 Dec;99(12):2504-5.-Sci Letter (IF: 4,716)
4. Nagy J, **Folhoffer A**, Horváth A, Csák T, Taba G, Szentmihályi K, Szalay F, Zelkó R. **Kinetic study of zinc sulphate release from lipophilic matrices prepared for the therapy of Wilson's disease.**
Pharmazie 2005;60:(7)524-6. IF: 0,587
5. **Folhoffer A**, Ferenci P, Csak T, Horvath A, Hegedus D, Firneisz G, Osztoivits J, Kosa JP, Willheim-Polli C, Szonyi L, Abonyi M, Lakatos PL and Szalay F. **Novel mutations of the ATP7B gene among 109 Hungarian patients with Wilson's disease**
Eur J Gastroenterol Hepatol 2007 Feb;19(2):105-11. IF: 1,843

Citálható absztrakt lektorált folyóiratban:

1. Horvath A, Keresztes K, **Folhoffer A**, Hegedus D, Lakatos PL, Dunkel K, Kempler P, Szalay F. **AUTONOMIC AND SENSORY NERVE DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH WILSON DISEASE**

1st Department of Internal Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary

J Hepatol 2003; 38(Suppl No 2):211.

2. Dunkel K., Horvath A., Keresztes K., **Folhoffer A.**, Hegedűs D., Lakatos P.L., Kempler P., Szalay F. ALTERED HEART RATE VARIABILITY IN PATIENTS WITH WILSON DISEASE

1st Department of Medicine of Semmelweis University, Budapest, Hungary

Z Gastroenterol 2003;41:434.

3. **Folhoffer A.**, Horvath A, Lakatos PL, Dunkel K, Beko G, Willheim C, Ferenci P, Szalay F. H1069Q AND FURTHER MUTATIONS OF ATP7B GENE IN WILSON DISEASE PATIENTS FROM HUNGARY

1 st Department of Semmelweis University, Budapest, Hungary, Department of Internal Medicine IV.,Gastroenterology and Hepatology, University of Vienna, AKH, Wien, Austria

Z Gastroenterol 2003;41:436.

4. **Folhoffer A**¹, Horvath A¹, Hegedus D¹, Firneisz G¹, Dunkel K¹, Willheim-Pollic², Ferenci P², Lakatos PL¹, Szalay F¹. H1069Q AND OTHER MUTATIONS OF ATB7B GENE IN HUNGARIAN PATIENTS WITH WILSON DISEASE

¹1st Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary, ² Department of Internal Medicine 4, University of Vienna, Austria

Gut 2003; 52 (Suppl VI) A3

5. **Folhoffer**¹, A. Horvath¹, T. Csak¹, P. L. Lakatos¹, M. Abonyi¹, L. Szonyi², C. Willheim-Polli³, P. Ferenci³, F. Szalay¹. LIVER FAILURE AS PRESENTING SYMPTOM IN WILSON DISEASE

¹1st Dept of Internal Medicine, ²1st Dept of Pediatrics, Semmelweis University, Budapest, Hungary, ³4th Dept of Medicine, University Vienna, Vienna, Austria

Gut 2004;53(Suppl VI) A93

6. **Folhoffer A.**, Lakatos PL, Horvath A, Csak T, Osztoivits J, Bajnok E, Speer G, Nagy Z, Habior A, Tornai I, Lakatos P, Szalay F. CALCIUM-SENSING RECEPTOR (CASR) A986S POLYMORPHISM AND BONE DISEASE IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS AND WILSON DISEASE

Zeitschrift für Gastroenterologie 2005; 43: 485 (A27)

7. **A Folhoffer**, P Ferenci, T Csak, A Horvath, D Hegedus, G Firneisz, J Osztovits, JP Kosa, C Willheim-Polli, L Szonyi, M Abonyi, PL Lakatos, F Szalay:
NOVEL MUTATIONS OF ATP7B GENE AMONG 109 HUNGARIAN PATIENTS WITH WILSON DISEASE. BENEFITS OF GENETIC ANALYSIS
GUT SVII (54), A190
8. **Folhoffer A.**, Csák T., Horváth A., Osztovits J., Fuszek P., Zacher G., Szalay F.
LATE DIAGNOSIS OF WILSON DISEASE AFTER ANTI-PARKINSON TREATMENT AND ATTEMPT AT SUICIDE. A CASE OF WILSON DISEASE ASSOCIATED WITH ULCERATIVE COLITIS
Zeitschrift für Gastroenterologie 2006; 43: 1-48; A27

Az értekezéshez közvetve kapcsolódó közlemények listája:

Dolgozatok:

1. Szalay F, Hantos MB, Horvath A, Lakatos PL, **Folhoffer A**, Dunkel K, Hegedus D, Tekes K. **Increased nociceptin/orphanin FQ plasma levels in hepatocellular carcinoma.**
World J Gastroenterol. 2004 Jan;10(1):42-5. IF:*
2. Horvath A, **Folhoffer A**, Lakatos PL, Halosz J, Illyes G, Schaff Z, Hantos MB, Tekes K, Szalay F. **Rising plasma nociceptin level during development of HCC: a case report.**
World J Gastroenterol. 2004 Jan;10(1):152-4. IF:*
3. Lakatos PL, Bajnok E, Tornai I, **Folhoffer A**, Horvath A, Lakatos P, Szalay F. **Csökkent csontásványianyag-tartalom és génpolimorfizmus primer biliaris cirrhosisban**
Orv Hetil. 2004 Feb 15;145(7):331-6.
4. Lakatos PL, Bajnok E, Tornai I, **Folhoffer A**, Horvath A, Lakatos P, Habor A, Szalay F. **Insulin-like growth factor I gene microsatellite repeat, collagen type Ialpha1 gene Sp1 polymorphism, and bone disease in primary biliary cirrhosis.**

- Eur J Gastroenterol Hepatol. 2004;16(8):753-759.* IF: 1,578
5. Keresztes K, Istenes I, **Folhoffer A**, Lakatos PL, Horváth A, Csak T, Vargha P, Kempler P, Szalay F: **Autonomic and sensory nerve dysfunction in primary biliaris cirrhosis**
World J Gastroenterol. 2004; 10 (20):3039-3043 IF:*
 6. Szalay F, Telegdy L, Szeli D, Csák T, **Folhoffer A**, Horváth A, Abonyi M, Szabó O, Rédei Cs, Nemesánszky E. **Rifaximin a hepaticus encephalopathia kezelésében.**
Lege Artis Medicinae 2004; 14(5): 321-325.
 7. **Folhoffer A**, Horváth A, Csák T, Nébenführer L, T, Hazslinszky P, Iványi A, Szalay F. **Neurofibromatosis, melanoma malignum, hyperthyreosis és HCV pozitivitás esete.**
Lege Artis Medicinae 2004; 14(5): 349-352.
 8. Csák T, **Folhoffer A**, Horváth A, Lengyel G, Kóbori L, Szalay F: **Májtranszplantáció utáni krónikus C-hepatitis recidívájának kombinált antivirális kezelése.**
Orv Hetil. 2004 145(39):2003-2006.
 9. Horvath A, **Folhoffer A**, Csak T, Komoly S, Szalay F. **Cryoglobulinaemiával és súlyos fokú polyneuropathiával járó krónikus C hepatitis gyógyult esete**
Magyar Belorvosi Archívum, 2004
 10. Szalay F, **Folhoffer A**, Horvath A, Csak T, Speer G, Nagy Z, Lakatos P, Horvath C, Habior A, Tornai I, Lakatos PL. **Serum leptin, soluble leptin receptor, free leptin index and bone mineral density in patients with primary biliary cirrhosis.**
EurJ Gastroenterol Hepatol. 2005 Sep ;17(9):923-8. IF:1,843
 11. Keresztes K, **Folhoffer A**, Lakatos PL, Istenes I, Horváth A, Csák T, Vargha P, Kempler P, Szalay F:
Az autonom és szenzoros neuropathia gyakorisága és rizikófaktorai primer biliáris cirrhosisban

Magyar Belorv Arch 2005; 58; 103-112.

12. Ferencz V, Horvath C, Kari B, Gaal J, Meszaros S, Wolf Z, Hegedus D, Horvath A, **Folhoffer A**, Szalay F. **Bone disorders in experimentally induced liver disease in growing rats.**

World J Gastroenterol. 2005 Dec 7;11(45):7169-73. IF:*

13. Csak T, **Folhoffer A**, Horvath A, Halasz J, Diczhazi C, Schaff Z, Szalay F. **Holmes-Adie syndrome, autoimmune hepatitis and celiac disease: a case report.**

World J Gastroenterol. 2006 Mar 7;12(9):1485-7. IF:.....*

14. Csák T, **Folhoffer A**, Horváth A, Osztoivits J, Halász J, Diczházi Cs, Schaff Zs, Szalay F. **Autoimmun hepatitis, coeliakia és Holmes-Adie szindróma együttes előfordulása**

Magy Belorv Arch 2006; 59: 55-58.

15. Csák T, **Folhoffer A**, Horváth A, Osztoivits J, Papp J, Görög D, Kóbori L, Szalay F. **Extrém hypercholesterinaemia és xanthomatosis laparoszkoós cholecystectomy után. Teljes reverzibilitás a iatrogén szűkület műtéti megoldását követően.**

Orv Hetil 2006; 147(15): 705-710.

16. Horváth A, **Folhoffer A**, Csák T, Osztoivits J, Szalay F. **Májrák primer biliáris cirrhosisban. Az irodalom áttekintése egy eset kapcsán.**

Magyar Belorv Arch 2006; 61: 207-212.

17. Speer G, Szenthe P, Kósa JP, Tabák AG, **Folhoffer A**, Fuszek P, Cseh K, Lakatos P. **Myocardial infarction is associated with Spl binding site polymorphism of collagen type 1A1 gene.** Acta Cardiol. 2006 Jun;61(3):321-5

* *WJG IF 2003: 3,318.*

„Notice from Thomson/ISI 2006-07-14: *World Journal of Gastroenterology* has been re-accepted for coverage in *Current Contents/ Clinical Medicine and SCIE.*”

Citálható absztrakt lektorált folyóiratban:

1. Lakatos P László, Éva Bajnok, **Anikó Folhoffer**, Andrea Horváth, István Tornai#, Lakatos Péter, Szalay Ferenc. COLLAGEN TYPE I α 1 GENE SP1 POLYMORPHISM AND BONE DISEASE IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS
1st Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, #2nd Department of Internal Medicine, Debrecen University, Debrecen, Hungary
J Hepatol 2003; 38(Suppl No 2):212.
2. Horváth A., Hantos M., Tekes K., Halász J., Illyés Gy., Schaff Zs., **Folhoffer A.**, Lakatos PL., Szalay F. HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN A PATIENT WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS IS NOCICEPTIN A MARKER FOR HCC?
1st Department of Medicine, Department of Pharmacodynamics and 2nd Department of Pathology of Semmelweis University, Budapest, Hungary
Z Gastroenterol 2003;41:439.
3. Lakatos PL, Bajnok E, **Folhoffer A**, Horvath A, Tornai I, Lakatos P, Szalay F. INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF-1) GENE MICROSATELLITE REPEAT AND COLLAGENE TYPE I ALPHA 1 Sp1 POLYMORPHISMS AND BONE DISEASE IN HUNGARIAN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS (PBC)
1st Department of Semmelweis University, Budapest, Hungary, 2nd Department of Internal Medicine, Debrecen University, Debrecen, Hungary
Z Gastroenterol 2003;41:444.
4. Nemesánszky E¹, Szeli D¹, Telegdy L², **Folhoffer A**³, Horváth A.³, Szalay F.³
RIFAXIMIN TREATMENT IN PORTOSYSTEMIC ENCEPHALOPATHY
¹Dept. of Gastroenterology, Polyclinic of the Hospitaler Brothers, ²Dept. of Hepatology of St. Laszlo Hospital, ³1st Dept. of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary
Z Gastroenterol 2003;41:449.

5. Szalay F.¹, Horvath A.¹, Hantos M.², **Folhoffer A.**¹, Lakatos P.L.¹, Bekő G.¹, Hegedus D.¹, Tekes K.² EXTREMELY HIGH PLASMA NOCICEPTIN MIGHT BE A MARKER FOR HEPATOCELLULAR CARCINOMA
1st Dept of Medicine¹ and Dept of Pharmacodynamics² of Semmelweis Univ., Budapest
Z Gastroenterol 2003;41:459
6. Szalay F, Hantos MB, Horvath A, Lakatos PL, **Folhoffer A**, Dunkel K, Hegedus D, Tekes K. STRIKING ELEVATION IN PLASMA NOCICEPTIN LEVEL IN PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA
Gastroenterology 2003;124;4(Suppl):A770-771.
7. Lakatos PL¹, Bajnok E¹, Tornai I², **Folhoffer A**¹, Horvath A¹, Lakatos P¹, Szalay F¹. INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-I (IGF-I) GENE MICROSATELLITE REPEAT, COLLAGEN TYPE IA1 GENE (COLIA1) SP1 POLYMORPHISM AND BONE DISEASE IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS
1st Department of Semmelweis University, Budapest, Hungary, 2nd Department of Internal Medicine, Debrecen University, Debrecen, Hungary
Gut 2003; 52 (Suppl VI) A164
8. Horvath A¹, Hantos MB², Tekes K², Zalatnai A³, **Folhoffer A**¹, Lakatos PL¹, Szalay F¹. HIGH PLASMA AND LIQUOR NOCICEPTIN LEVELS IN RAT WITH EXPERIMENTAL HEPATOCELLULAR CARCINOMA
1st Department of Medicine¹, Department of Pharmacodynamics² and 1st Department of Pathology³ of Semmelweis University, Budapest, Hungary
Gut 2003; 52 (Suppl VI) A232
9. Szalay F, Horvath A, **Folhoffer A**, Lakatos PL, Zalatnai A, Hantos MB, Tekes K. INCREASED LIQUOR, PLASMA AND TUMOR TISSUE NOCICEPTIN IN RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED HEPATOCELLULAR CARCINOMA.
Hepatology 2003;38.No4.Suppl1,412A
10. Horvath A¹, **Folhoffer A**¹, Csak T¹, Lakatos PL¹, Zalatnai A², Hantos MB³, Tekes K³, Szalay F¹. INCREASED NOCICEPTIN AND NOCISTATIN IN

PLASMA, CEREBROSPINAL FLUID AND TUMOR TISSUE INDICATES ALTERED OPIOID SYSTEM IN RATS WITH EXPERIMENTAL HEPATOCELLULAR CARCINOMA

¹st Dept of Medicine¹, ¹st Dept of Pathology², Dept of Pharmacodynamics of Semmelweis University

J Hepatol 2004, 40 (Suppl 1) A250

11. A Horvath¹, **A Folhoffer**¹, T Csak¹, PL Lakatos¹, MB Hantos², K Tekes³, A Szíjártó⁴, P Kupcsulik⁴, A Kiss⁵, J Halasz⁵, Z Schaff⁵, F Szalay¹. HIGH NOCICEPTIN CONTENT IN HUMAN HEPATOCELLULAR CARCINOMA TISSUE

¹1st Department of Medicine, ² Neurochemical Research Unit of Hungarian Academy of Sciences, ³Department of Pharmacodynamics, ⁴1st Department of Surgery, ⁵ 2nd Department of Pathology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

Gastroenterology 2004, 126 (Suppl 2) A736

12. Csák T, **Folhoffer A**, Horvath A, Szeli D, Lakatos PL, Szalay F. ADIE'S SYNDROME AND MESENTERIAL LYMPHANGIOMA IN A PATIENT WITH CELIAC DISEASE AND AUTOIMMUNE HEPATITIS

Z Gastroenterol 2004; 42:P408

13. **Folhoffer A**, Horvath A, Csák T, Lakatos PL, Szalay F. NEUROFIBROMATOSIS, CUTAN MELANOMA AND HYPERTHYROIDISM IN A HCV POSITIVE PATIENT TREATED WITH INTERFERON

Z Gastroenterol 2004; 42:P411

14. Horváth A, **Folhoffer A**, Csák T, Zalatnai A, Hantos M, Tekes K, Lakatos PL, Szalay F. NOCICEPTIN IN EXPERIMENTALLY INDUCED HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Z Gastroenterol 2004; 42: P415

15. Lakatos PL, Willheim-Polli C, **Folhoffer A**, Horvath A, Csak T, Österreicher C, Habior A, Tornai I, Ferenci P, Szalay F. NOD2/CARD15 SNP8, 12 AND 13

AND OTHER EXON4 MUTATIONS AND PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS
(PBC) IN HUNGARIAN AND POLISH PATIENTS

Z Gastroenterol 2004; 42:P423

16. Szalay F, **Folhoffer A**, Horvath A, Csak T, Tornai I, Habior A, Speer G, Nagy Z, Lakatos P, Lakatos PL. SERUM LEPTIN LEVELS IN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Z Gastroenterol 2004; 42:P440

17. F. Szalay, **A. Folhoffer**, A. Horvath, T. Csak, A. Habior, I. Tornai, G. Speer, Z. Nagy, P. Lakatos, P.L. Lakatos. LOW SERUM LEPTIN LEVEL IN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Gut 2004;53(Suppl VI) A64

18. Csák T, **Folhoffer A**, Horvath A, Bíró A, Lakatos PL, Osztovits J, Toth T, Habior A, Bekő G, Tornai I, Karádi I, Füst G, Szalay F. CHOLESTEROL BINDING ANTIBODIES IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Zeitschrift für Gastroenterologie 2005; 43: 481 (A13)

19. F. Szalay, **A. Folhoffer**, A. Horvath, T. Csak, A. Habior, I. Tornai, G. Speer, Z. Nagy, P. Lakatos, P.L. Lakatos. LOW SERUM LEPTIN LEVEL IN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Gut 2004;53(Suppl VI) A64

20. Csák T, **Folhoffer A**, Horvath A, Bíró A, Lakatos PL, Osztovits J, Toth T, Habior A, Bekő G, Tornai I, Karádi I, Füst G, Szalay F. CHOLESTEROL BINDING ANTIBODIES IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Zeitschrift für Gastroenterologie 2005; 43: 481 (A13)

21. Horvath A, Szegedi A, **Folhoffer A**, Csak T, Osztovits J, Bekő G, Vargha P, Szalay F. SERUM ALPHA-FETOPROTEIN (AFP) LEVEL IN NON-TUMOROUS CHRONIC LIVER DISEASE

Zeitschrift für Gastroenterologie 2005; 43: A44

22. Szalay F, Csak T, **Folhoffer A**, Horvath A, Speer G, Nagy Z, Lakatos P, Habior A, Tornai I, Lakatos PL. SERUM LEPTIN, SOLUBLE LEPTIN RECPETOR

LEVELS AND FREE LEPTIN INDEX IN PATIENTS WITH PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Zeitschrift für Gastroenterologie 2005; 43:513 (A126)

23. Keresztes K, Istenes I, **Folhoffer A**, Lakatos P, Horvath A, Csak T, Vargha P, Kempler P, Szalay F. AUTONOMIC AND SENSORY NEUROPATHY IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

Zeitschrift für Gastroenterologie 2005; 43:495 (A61)

24. Szalay F, Csak T, **A Folhoffer**, A Horvath, A Biro, J Osztovits, PL Lakatos, A Habior, I Tornai, I Karadi, G Fust. ANTIBODIES TO FREE CHOLESTEROL IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

World Congress of Gastroenterology; September10-14, 2005, Montreal

25. T Csak, **A Folhoffer**, A Horvath, J Osztovits, A Biro, PL Lakatos, T Toth, A Habior, G Bekő, I Karadi, G Füst, I Tornai, F Szalay. ANTI-CHOLESTEROL ANTIBODIES IN PRIMARY BILIARY AND WILSON DISEASE

GUT SVII (54), A12

26. T Csak, D Székács, **A Folhoffer**, A Horvath, J Osztovits, A Zalatnai, MIK Fekete, GM Nagy, I Bodnár, F Szalay. ALTERED NORADRENALINE-DOPAMINE SYSTEM IN EXPERIMENTAL LIVER CIRRHOSIS

GUT SVII (54), A187

27. A Horvath, A Szegedi, **A Folhoffer**, T Csak, J Osztovits, G Bekő, P Vargha, F Szalay. SERUM ALPHA-FETOPROTEIN (AFP) LEVEL IN NON-TUMOROUS CHRONIC LIVER DISEASES

GUT SVII (54), A196

28. F Szalay, T Csak, **A Folhoffer**, A Horvath, A Biro, J Osztovits, PL Lakatos, A Habior, I Tornai, I Karadi, G Fust. ANTIBODIES TO FREE CHOLESTEROL IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS

HEPATOLOGY; 42 (4): 509A, Suppl. 1

29. Szalay F., Csak T., Biro A., Scherzer T., **Folhoffer A.**, Horvath A., Osztovits J., Lakatos P., Karádi I., Füst G., Ferenci P. ANTI-CHOLESTEROL ANTIBODY

LEVELS IN CHRONIC HEPATITIS C. HIGH TITERS IN PATIENTS WITH GENOTYPE 3 AND 4, BUT NOT IN GENOTYPE 1B

Zeitschrift für Gastroenterologie 2006;43: 1-48; A122

30. Csák T., **Folhoffer A.**, Horvath A., Osztovits J., Papp J., Görög D., Kóbori L., Szalay F.

XANTHOMATOSIS AND EXTREME HYPERCHOLESTEROLEMIA AFTER LAPAROSCOPIC CHOLECYSTECTOMY. RECOVERY FOLLOWING SURGERY OF IATROGENOUS STENOSIS OF COMMON BILE DUCT.

Zeitschrift für Gastroenterologie 2006;43: 1-48; A13

31. Osztovits J., Csák T., **Folhoffer A.**, Horváth A., Ónodi L., Schaff Z., Szalay F.
ACUTE CHOLESTATIC HEPATITIS SYNDROME CAUSED BY ECSTASY
Zeitschrift für Gastroenterologie 2006; 43:1-48; A86

32. T Csak, D Szekacs, **A Folhoffer**, A Horvath, J Osztovits, I Bodnar, A Zalatnay, M Fekete, Gy Nagy, F Szalay. ALTERATION OF NORADRENALIN-DOPAMIN SYSTEM IN EXPERIMENTAL LIVER CIRRHOSIS
GASTROENTEROLOGY; 130 (4); Suppl 2; A815 (M-1070)

12 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet mondok a Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika korábbi vezetőjének, **Prof. Dr. DeChâtel Rudolf**nak, **Prof. Dr. Farsang Csabának**, és a klinika jelenlegi intézetvezetőjének, **Szatmári Miklós Tanár Úrnak**, akik munkámban messzemenően támogattak, kutatásaimhoz és a belgyógyászat tanulásához minden segítséget megadtak.

Köszönöm, hogy **Prof Dr. Tulassay Zsolt** a doktori programjában kutatásaimhoz keretet biztosított, és munkámat segítő gondoskodással kísérte.

Hálával és tisztelettel gondolok **Szalay Ferenc Professor Úrra**, aki végtelen türelmével és nagy szakmai tudásával, folyamatos biztatással, szinte fogadott lányaként kísért végig munkám során, tanítva a kutatómunka fortélyait és a betegek gondozását.

Köszönettel tartozom **Dr. Abonyi Margit Tanárnőnek**, aki elindított a belgyógyászati pályán és akihez azóta is mindig bátran fordulhatok.

Munkám nem készülhetett volna el a széles körű hazai és nemzetközi kooperáció nélkül, itt szeretném megköszönni minden budapesti és vidéki kollégának, hogy megtiszteltek bizalmukkal és betegeiket hozzánk irányították. Külön köszönöm a bécsi egyetemen **Prof. Dr. Ferenci Péter** és **Claudia Willheim-Polli** segítségét.

Hálás köszönettel tartozom **Fehér János Professor Úrnak**, **Dr. Szőnyi Lászlónak**, **Dr. Schuller Jánosnak**, **Dr. Újhelyi Enikőnek**, **Dr. Csomor Juditnak**, **Prof. Dr. Király Lászlónak**, **Dr. Lászik Andrásnak**, **Dr. Horváth Csabának**, **Zelkó Romána Prof. Asszonynak**, **Dr. Nagy Juditnak**, **Taba Gabriellának**, **Dr. Kovalszky Ilonának**, **Dr. Kamondi Anitának**, **Dr. Tamás Gertrúdnak** és a **transzplantációs munkacsoportnak** (a teljesség igénye nélkül **Prof. Dr. Perner Ferenc**, **Prof. Dr. Járay Jenő**, **Dr. Görög Dénes**, **Dr. Kóbori Lászó**, **Dr. Fehérvári Imre**, **Dr. Nemes Balázs**), hogy velük dolgozhattam.

Hálásan köszönöm **Prof. Dr. Lakatos Péternek**, hogy az általa vezetett magas szintű genetikai kutatólaboratórium életébe befogadott, és hogy értékes tanácsaira a kutatómunka mindennapi gyakorlati kérdéseiben mindig számíthattam. Itt szeretném megköszönni a klinika **Központi Laboratóriumának**, valamint a **Klinikai Kutató és Izotópdiaosztikai Laboratórium minden dolgozójának**, a klinika orvosainak és nővéreinek, hogy kutatásaim során tőlük oly sok segítséget kaptam. Külön köszönöm **Dr. Bekő Gabriella** és **Dr. Büki Béla Tanár Úr**, a mindig készséges biológusunk, **Kósa János Pál**, valamint **Szabóné Sinkovits Tünde** és **Keresztényi Györgyi** értékes segítségét.

Köszönöm **Dr. Hegedűs Dalmának**, **Dr. Firneisz Gábornak**, és külön kímelve **Dr. Lakatos Péter Lászlónak**, hogy hozzájuk mindig bizalommal fordulhattam segítségért.

Köszönöm közvetlen kollégáimnak, **Dr. Horváth Andreának**, **Dr. Csák Tímeának**, **Dr. Ferencz Viktóriának**, **Dr. Dunkel Kingának**, **Dr. Osztovits Jánosnak** és **Dr. Visnyei Zsoltnak**, hogy baráti légkörben dolgozhattunk együtt és testvérekként mindenben segítettek.

Végül a legfontosabb: örök hálával tartozom **Családomnak**, Édesapámnak, Édesanyámnak, húgomnak, Gyöngyinek, férjemnek, Kuczy Csabának és kislányomnak, Dorottyának, hogy minden segítséget megadva ilyen csodálatos meleg, szerető családi háttérrel biztosítanak nekem.

Köszönöm a **Wilson betegeknek és családtagjaiknak**, azoknak, akiknek sikerült és akiknek sajnos nem sikerült segítenem, ez a munka is Ő értük készült.

13 IRODALOMJEGYZÉK

- ¹ S. A. K. Wilson. Progressive lenticular degeneratio. A familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain, Oxford*, 1912,**34**:295-507.
- ² F. T. von Frerichs: Klinik der Leberkrankheiten. Braunschweig, *F. Vieweg u. Sohn*, 1858-1861. Volume 2, pp. 62-64.
- ³ K. F. O. Westphal: Über eine dem Bilde der cerebrospinalen grauen Degeneration ähnliche Erkrankung des centralen Nervensystems ohne anatomischen Befund, nebst einigen Bemerkungen über paradoxe Contraction. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten, Berlin*, 1883,**14**:87-134,767-769.
- ⁴ A. von Strümpell: Über die Westphal'sche Pseudosklerose und über diffuse Hirnsklerose, insbesondere bei Kindern. *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde*, Berlin, 1898,**12**:115-149.
- ⁵ Fleischer B. Zwei weitere Fälle von grünliche Verfärbung der Kornea. *Klin Mbl Augenheilk* 1903;**41**:489-491.
- ⁶ Kayser B. Über einen Fall von angeborener grünliche Verfärbung der Kornea. *Klin Mbl Augenheilk* 1902;**40**:22-25.
- ⁷ Rumpel A. Über das Wesen und die Bedeutung der Leberveränderungen und der Pigmentierungen bei den damit verbundenen Fällen von Pseudosklerose, zugleich ein Beitrag zur Lehre von Pseudosklerose (Westphal-Strümpell). *Dtsch Z Nervenheilk* 1913;**49**:54-73.
- ⁸ Bearn AG, Kunkel HG. Biochemical abnormalities in Wilson's disease. *J Clin Invest* 1952;**31**:616.
- ⁹ Scheinberg IH, Gitlin D. Deficiency of ceruloplasmin in patients with hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). *Science* 1952;**116**:484-485.
- ¹⁰ Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW: The Wilson disease gene is a putative copper transportin P type ATP-ase similar to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;**5**:327-337.
- ¹¹ Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, Pellequer JL, Wasco W, Ross B, Romano DM, Parano E, Pavone L, Brzustowicz LM: The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;**5**:44-50.

-
- ¹² Kenney S, Cox DW: Wilson disease mutation database. <http://www.medicalgenetics.med.ualberta.ca/wilson/index.php> Last updated June 2007, accessed 26 July, 2008.
- ¹³ Wang E, Falus A: Changing paradigm through a genom-based approach to clinical and basic immunology. *J Transl Med* 2004;**2**:1-3.
- ¹⁴ Pár A, Szalay F, Lakatos PL, Nagy Zs, Mózsik Gy: Genetika májbetegségekben. *Orv Hetil* 2002;**143**:3-12.
- ¹⁵ Jin P, Wang E: Polymorphism in clinical immunology. From HLA typing to immunogenetic profiling. *J Transl Med* 2003;**1**:8.
- ¹⁶ Csaszar A, Abelt T: Receptor polymorphisms and diseases. *Eur J Pharmacol* 2001;**414**:9-22.
- ¹⁷ Cumings JN. The effects of BAL in hepatolenticular degeneration. *Brain* 1951;**74**:10-22.
- ¹⁸ Denny-Brown D, Porter H. The effect of BAL (2,3 dimercaptopropanol) on hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). *N Eng J Med* 1951;**245**:917-925.
- ¹⁹ Walshe JM. Penicillamine. A new oral Therapy for Wilson's disease. *Am J Med* 1956;**21**:487-495.
- ²⁰ Schouwink G. De hepatocerebrale degeneratie, me een onderzoek naar de zinktofwisseling. University of Amsterdam: MD Thesis, 1961.
- ²¹ Brewer GJ. Wilson's disease: A clinician's guide to recognition, diagnosis, and management. *Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts* 2001.
- ²² Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V. Wilson' disease. *Medicine* 1992;**71**:139-164.
- ²³ Scheinberg I, Sternlieb I. Wilson's disease. Vol 23 in: Lloyd H, Smith J (eds) *Major problems in internal medicine*. WB Saunders, Philadelphia; 1984.
- ²⁴ Caca K, Ferenci P, Kuhn HJ, Polli C, Willgerodt H, Kunath B *et al*. High prevalence of the H1069Q mutation in East German patients with Wilson disease: rapid detection of mutations by limited sequences and phenotype–genotype analysis. *J Hepatol* 2001;**35**(5):575-581.

-
- ²⁵ Olsson C, Waldenström E, Westermark K, Landegren U, Syvanen AC. Determination of the frequencies of ten allelic variants of the Wilson disease gene (ATP7B), in pooled DNA samples. *Eur J Hum Genet* 2000;**8**:933-938.
- ²⁶ Saito T. An expected decrease in the incidence of autosomal recessive disease due to decreasing consanguineous marriages. *Gen Epidemiol* 1981;**5**:421-432.
- ²⁷ Herra SA, Hevia FJ, Vargas M, Schosinsky K. Fulminant Wilson's disease in Costa Rica. Clinico-pathological study of 7 cases. *G E N* 1990;**44**:9-14.
- ²⁸ Petrukhin K, Lutsenko S, Chernov I, Ross BM, Kaplan JH, Gilliam TC. Characterization of the Wilson disease gene encoding a P-type copper transporting ATPase: genomic organization, alternative splicing, and structure/function predictions. *Hum Mol Genet* 1994;**3**:1647-1656.
- ²⁹ Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;**5**:327-337.
- ³⁰ Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, Pellequer JL, Wasco W, Ross B *et al.* The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;**5**:344-50.
- ³¹ Yamaguchi Y, Heiny ME, Gitlin JD. Isolation and characterization of human liver cDNA as a candidate gene for Wilson disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;**197**:271-277.
- ³² Katano K, Kondo A, Safaei R, Holzer A, Samimi G, Mishima M, Kuo YM, Rochdi M, Howell SB. Acquisition of resistance to cisplatin is accompanied by changes in the cellular pharmacology of copper. *Cancer Res.* 2002;**62**(22):6559-65.
- ³³ Dmitriev O, Tsivkovskii R, Abildgaard F, Morgan CT, Markley JL, Lutsenko S. Solution structure of the N-domain of Wilson disease protein: distinct nucleotide-binding environment and effects of disease mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;**103**(14):5302-7.
- ³⁴ Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA, Walshe JM, Cox DW. The Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences. *Nat Genet* 1995; **9**(2): 210-7.

-
- ³⁵ Shah AB, Chernov I, Zang HT, Ross BM, Das K, Lutsenko S *et al.* Identification and analysis of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B): population frequencies, genotype-phenotype correlation and functional analysis. *Am J Hum Genet* 1997;**61**:317-328.
- ³⁶ Firneisz G, Lakatos PL, Szalay F, Polli C, Glant TT, Ferenci P. Common Mutations of ATP7B in Wilson Disease Patients From Hungary. *Am J Med Genet* 2002;**108**:23-28.
- ³⁷ Maier-Dobersberger T, Ferenci P, Polli C, Balac P, Dienes HP, Kaserer K *et al.* Detection of the His1069Gln mutation in Wilson disease by rapid polymerase chain reaction. *Ann Intern Med* 1997;**127**:21-26.
- ³⁸ Czlonkowska A, Rodo M, Gajda J, Ploos van Amstel HK, Juyn J, Houwen RH. Very high frequency of the His1069Gln mutation in Polish Wilson disease patients. *J Neurol* 1997;**244**:591-592.
- ³⁹ Tarnacka B, Gromadzka G, Rodo M, Mierzejewski P, Czlonkowska A. Frequency of His1069Gln and Gly1267Lys mutations in Polish Wilson's disease population. *Eur J Neurol*. 2000;**7**:495-8.
- ⁴⁰ Duc HH, Hefter H, Stremmel W, Castaneda-Guillot C, Hernandez Hernandez A, Cox DW *et al.* His1069Gln and six novel mutations: analysis of relevance for early diagnosis and phenotype. *Eur J Hum Genet* 1998;**6**:613-623.
- ⁴¹ Riordan SM, Williams R. The Wilson's disease gene and phenotypic diversity. *J Hepatol* 2001;**34**:165-171.
- ⁴² Ferenci P, Caca K, Berr F *et al.* Phenotypic-genotypic correlations of common mutations in European patients with Wilson disease. *Hepatology* 2000;**32**:415A.
- ⁴³ Nanji MS, Nguyen VT, Kawasoe JH, Inui K, Endo F, Nakajima T *et al.* Haplotype and mutation analysis in Japanese patients with Wilson disease. *Am J Hum Genet* 1997;**60**:1423-1429.
- ⁴⁴ Portala K. Psychopathology in Wilson's disease. Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine, 2001.

-
- ⁴⁵ Zucker S, Gollan J. Copper metabolism and Wilson's disease. An-ion recent advance. In: Modern concepts in Gastroenterology, Eds: ABR Thomas and S Schaffer, Vol. 3. New York: Plenum Medical Book Co. 1999; 223-226.
- ⁴⁶ Osaki S, Johnson DA, Frieden E: The mobilisation of iron from the perfused mammalian liver by a serum copper enzyme ferroxidase. *J Biol Chem* 1971;**246**:3018-3023.
- ⁴⁷ Jákó János: A Wilson-kór (Az élettani és kóros rézanyagcsere összefoglalása) Jákó János: Betegágytól betegágyig. *Medicina Könyvkiadó Rt.* 2000; 37-46.
- ⁴⁸ Strickland GT, Beckner WM, Leu M-L: Absorption of copper in homozygotes and heterozygotes for Wilson's disease and controls: isotope tracer studies with ⁶⁷Cu and ⁶⁴Cu. *Clin Sci.* 1972 Nov;**43**(5):617-25.
- ⁴⁹ Forbes J.R., Hsi G., Cox D.W.: Role of copper-binding domain in the copper transport function of ATP7B, the P-type ATPase defective in Wilson disease. *J Biol Chem* 1999;**274**,12408-12413.
- ⁵⁰ Brenner I. Absorption, transport and distribution of copper. In: Biological roles of copper. Ciba Foundation Symposium 79. *Amsterdam: Excerta Medica.* 1989; 23-36.
- ⁵¹ Cousis RJ. Metallothionein – aspects related to copper and zinc metabolism. *J Inter Metab Dis* 1983;**6**:15-21.
- ⁵² Hoogenraad T. Wilson's disease. In: Major problems in neurology. Eds: Warlow CP, von Gijn J. Vol 30. *London: WB Saunders company* 1996.
- ⁵³ Scheinberg IH, Sternlieb I. Wilson's disease. In: Major problems in internal medicine. Ed: LH Smith Jr. Vol 23. *Philadelphia: WB Saunders Company* 1984.
- ⁵⁴ Harada M., Sakisaka S., Terada K. *et al*: A mutation of the Wilson disease protein, ATP7B, is degraded in the proteasomes and forms protein aggregates. *Gastroenterology* 2001;**120**:967-974.
- ⁵⁵ Sokol R.J., Twedt D., McKim J.M. *et al*: Oxidant injury to hepatic mitochondria in patients with Wilson's disease and Bedlington terriers with copper toxicosis. *Gastroenterology* 1994;**107**:1788-1798.
- ⁵⁶ Gu M., Cooper J.M., Butler P. *et al*: Oxidative phosphorylation defects in liver of patients with Wilson's disease. *Lancet* 2000;**356**:469-474.

-
- ⁵⁷ Lutshenko S, Cooper MJ.: Localization of the Wilson disease protein product to mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;**95**:6004-6009.
- ⁵⁸ Schaefer M., Hopkins R., Failla M. *et al*: Hepatocyte-specific localization and copper-dependent trafficking of the Wilson's disease protein in the liver. *Am J Physiol* 1999;**276**:G639-G646.
- ⁵⁹ Nagano K., Nakamura K., Urakami I. *et al*: Intracellular distribution of the Wilson's disease gene product (ATPase 7B) after in vitro and in vivo exogenous expression in hepatocytes from the LEC rat, an animal model of Wilson's disease. *Hepatology* 1998;**27**:799-807.
- ⁶⁰ Saito T., Okabe M., Hosokawa T. *et al*: Immunohistochemical determination of the Wilson copper-transporting P-type ATPase in the brain tissues of the rat. *Neurosci Lett* 1999;**266**:13-16.
- ⁶¹ Shilsky M.L., Scheinberg I.H., Sternlieb I.: Liver transplantation for Wilson's disease: indications and outcome. *Hepatology* 1994;**19**:583-587.
- ⁶² Riordan SM, Williams R.:The Wilson's disease gene and phenotypic diversity. *J Hepatol* 2001;**34**:165-171.
- ⁶³ Beyersdorff A, Findeisen A. Morbus Wilson: Case report of a two-year-old child as first manifestation. *Scand J Gastroenterol.* 2006;**41**(4):496-7.
- ⁶⁴ Ala A, Borjigin J, Rochwarger A, Schilsky M. Wilson disease in septuagenarian siblings: Raising the bar for diagnosis. *Hepatology.* 2005;**41**(3):668-70.
- ⁶⁵ Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant hepatic failure: definition and causes. *Semin Liv Dis* 1986;**6**:97-106.
- ⁶⁶ Gill RQ, Sterling RK. Acute liver failure *J Clin Gastroenterol* 2001;**33**(3):191-198.
- ⁶⁷ O'Grady J G Acute liver failure *Postgrad Med J* 2005;**953**:148-54.
- ⁶⁸ Johnson S.: Is Parkinson's disease the heterozygote form of Wilson's disease: PD=1/2 WD? *Med Hypotheses* 2001;**56**:171-173.
- ⁶⁹ Vörös E., Klivényi P., Szok D.: MR-vizsgálattal kimutatott Wilson-betegség. *Ideggy Szle* 1999;**52**:99-101.
- ⁷⁰ Huang CC, Chu NS. Wilson's disease: clinical analysis of 71 cases and comparison with previous Chinese series. *J Formos Med Assoc.* 1992;**91**(5):502-7.

-
- ⁷¹ Kontaxakis V, Stefanis C, Markidis M, Tserpe V. Neuroleptic malignant syndrome in a patient with Wilson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;**51**(7):1001-2.
- ⁷² Firneisz G, Szalay F, Halasz P, Komoly S. Hypersomnia in Wilson's disease: an unusual symptom in an unusual case. *Acta Neurol Scand* 2000;**101**:286-288.
- ⁷³ Bearn AG, Yu TF, Gutman AB. Renal function in Wilson's disease. *J Clin Invest*. 1957;**36**(7):1107-14.
- ⁷⁴ Azizi E, Eshel G, Aladjem M. Hypercalciuria and nephrolithiasis as a presenting sign in Wilson disease. *Eur J Pediatr*. 1989;**148**(6):548-9.
- ⁷⁵ Milne MD. Genetic aspects of renal disease. *Prog Med Genet*. 1970;**7**:112-62. Review
- ⁷⁶ Fehér J, Lengyel: *Hepatológia, Medicina* 2001; 1014
- ⁷⁷ Gitlin, N. Wilson's disease: The scourge of copper. Review. *J Hepatol* 1998;**28**:734-739.
- ⁷⁸ Mindelzung R, Elkin M, Scheinberg HI, Sternlieb I. Skeletal changes in Wilson's disease: a radiological study. *Radiology* 1970;**94**:127-132.
- ⁷⁹ Aksoy M, Camli, N, Dincol, K, Erdem S, Akgun T. Osseous changes in Wilson's disease: a radiologic study of nine patients. *Radiology* 1972;**102**:505-509.
- ⁸⁰ Orbán I, Balogh Zs. A Wilson-kór reumatológiai vonatkozásairól egy eset kapcsán. *Magyar Reumatológia*, 2000;**41**:221-226.
- ⁸¹ Menerey KA, Eider W, Brewer GJ, Braunstein EM, Schumacher HR, Fox I. The arthropathy of Wilson's disease: Clinical and pathologic features. *J Rheumatol* 1988;**15**:331-337.
- ⁸² Hegedűs D, Ferencz V, Lakatos PL, Mészáros Sz, Lakatos P, Horváth Cs, Szalay F. Decreased bone density, elevated serum osteoprotegerin, and β -cross-laps in Wilson disease *J Bone Miner Res* 2002;**17**:1961-1967
- ⁸³ Pilishegyi J, Lacza T, Kazy Z, Czeizel E. A genetikai tanácsadás és sikeres terhesség Wilson-kóros nőben *Orv Hetil*. 1993;**134**:1813-6.
- ⁸⁴ Sinha S, Taly AB, Prashanth LK, Arunodaya GR, Swamy HS. Successful pregnancies and abortions in symptomatic and asymptomatic Wilson's disease. *J Neurol Sci*. 2004;**217**(1):37-40.

-
- ⁸⁵ Ferenci P, Caca K, Loudianos G, Mieli-Vergani G, Tanner S, Sternlieb I, Schilsky M, Cox D, Berr F. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int.* 2003;**23**(3):139-42.
- ⁸⁶ Roberts EA, Schilsky ML. A practice guideline on Wilson disease. *Hepatology* 2003;**37**:1475-1492.
- ⁸⁷ Szalay F. Wilson disease in 2003. *Orv Hetil* 2003;**144**(50):2451-8.
- ⁸⁸ Torisu T, Esaki M, Matsumoto T, Nakamura S, Azuma K, Okada M, Tsuji H, Yao T, Iida M. A rare case of ulcerative colitis complicating Wilson's disease: possible association between the two diseases. *J Clin Gastroenterol.* 2002;**35**(1):43-5.
- ⁸⁹ Liu XQ, Zhang YF, Liu TT, Hsiao KJ, Zhang JM, Gu XF et al. Correlation of ATP7B genotype with phenotype in Chinese patients with Wilson disease. *World J Gastroenterol* 2004;**10**(4):590-3.
- ⁹⁰ Loudianos G, Dessí V, Angius A, Lovicu M, Loi A, Deiana M et al. Wilson disease mutations associated with uncommon haplotypes in mediterranean patients. *Hum Genet* 1996;**98**:640-642.
- ⁹¹ Grudeva-Popova JG, Spasova MI, Chipileva KG, Zaprianov ZH: Acute haemolytic anemia as an initial clinical manifestation of Wilson's disease. *Folia Med (Plovdiv)* 2000;**42**:42-46.
- ⁹² Figus A, Angius A, Loudianos G, Bertini C, Dessi V, Loi A et al. Molecular pathology and haplotype analysis of Wilson disease in Mediterranean populations. *Am J Hum Genet* 1995;**57**:1318-24.
- ⁹³ Panagiotakaki E, Tzetis M, Manolaki N et al. Genotype-phenotype correlations for a wide spectrum of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B). *Am J Med Genet* 2004;**131A**:168-73.
- ⁹⁴ Genschel J, Czlonkowska A, Sommer G, Buettner C, Bochow B, Lochs H et al. Three novel mutations (P760L, L1305P, Q1351Stop) causing Wilson disease. *Hum Mutat.* 2001;**17**(2):156.

-
- ⁹⁵ Huster D, Weizenegger M, Kress S, Mossner J, Caca K. Rapid detection of mutations in Wilson disease gene ATP7B by DNA strip technology. *Clin Chem Lab Med*. 2004;**42**(5):507-10.
- ⁹⁶ Curtis D, Durkie M, Balac (Morris) P, Sheard D, Goodeve A, Peake I *et al*. A study of Wilson disease mutations in Britain. *Hum Mutat* 1999;**14**:304-11.
- ⁹⁷ Okada T, Shiono Y, Hayashi H, Satoh H, Sawada T, Suzuki A *et al*. Mutational analysis of ATP7B and genotype-phenotype correlation in Japanese with Wilson's disease. *Hum Mutat* 2000;**15**:454-62.
- ⁹⁸ Sternlieb I. Perspectives on Wilson's disease. *Hepatology* 1990;**12**:1234-1239.
- ⁹⁹ Steindl P, Ferenci P, Dienes HP, Grimm G, Pabinger I, Madl C *et al*. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology* 1997;**113**:212-8.
- ¹⁰⁰ Strickland GT, Frommer D, Leu ML, Pollard R, Sherlock S, Cumings JN. Wilson's disease in the United Kingdom and Taiwan. I. General characteristics of 142 cases and prognosis. II. A genetic analysis of 88 cases. *Q J Med* 1973;**42**:619-38.
- ¹⁰¹ Palsson R, Jonasson JG, Kristjansson M, Bodvarsson A, Goldin RD, DW Cox *et al*. Genotype-phenotype interactions in Wilson's disease: insight from an Icelandic mutation. *Eur J Gastroen Hepatol* 2001;**13**:433-436.
- ¹⁰² Walshe JM, Briggs J. Caeruloplasmin in liver disease. A diagnostic pitfall. *Lancet* 1962;**2**:263-5.
- ¹⁰³ Gow PJ, Smallwood RA, Angus PW, Smith AL, Wall AJ, Sewell RB. Diagnosis of Wilson's disease: an experience over three decades. *Gut* 2000;**46**:415-9.

-
- ¹⁰⁴ Ferenci P, Steindl-Munda P, Vogel W *et al.* Diagnostic value of quantitative hepatic copper determination in patients with Wilson disease. *Clinical Gastroenterol Hepatol* 2005;**3**:811-818.
- ¹⁰⁵ Ferenci P. Pathophysiology and clinical features of Wilson disease. *Metab Brain Dis* 2004;**19**:229-39.
- ¹⁰⁶ Ferenci P, Caca K, Stremmel W, Wilhelm C, Firneisz G, Houwen R, Szalay F. Phenotype-genotype correlations in siblings of index patients with Wilson disease (WD). *Hepatology*. 2004;**40**:580A.
- ¹⁰⁷ Kasai, M., Miyoshi, I., Osanai, T. et al. Effects of sex hormones on fulminant hepatitis in LEC rat: a model of Wilson's disease. *Lab. Anim. Sci* 1992;**42**:363-8.
- ¹⁰⁸ Pár A. Az akut májelégtelenség kezelése. *Orv Hetil.* 2003;**144**(35):1735-6.
- ¹⁰⁹ Torisu T, Esaki M, Matsumoto T, Nakamura S, Azuma K, Okada M, Tsuji H, Yao T, Iida M. A rare case of ulcerative colitis complicating Wilson's disease: possible association between the two diseases. *J Clin Gastroenterol.* 2002;**35**(1):43-5.