

**Poliglutamin extenzióval járó trinukleotid ismétlődési  
betegségek sajátosságainak vizsgálata hazai és nemzetközi  
beteganyagon**

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés**

**Dr. Balikó László Tamás**

**Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar  
Orvosi Genetikai és Gyermekejlődéstani Intézet**

**Témavezető: Dr. Melegh Béla**

**Pécs**

**2008**

## TARTALOMJEGYZÉK

oldal

<b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b>	3.
<b>1. BEVEZETÉS</b>	4.
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b>	
2.1. Trinukleotid repeat betegségek	6.
2.2. Huntington chorea	6.
2.3. Spinocerebelláris heredoataxiák	8.
<b>3. CÉLKITŰZÉSEK</b>	12.
<b>4. MÓDSZEREK</b>	
4.1. Vizsgálatban résztvevő betegek	13.
4.2. Alkalmazott molekuláris genetikai módszerek	16.
4.3. Alkalmazott statisztikai módszerek	16.
<b>5. EREDMÉNYEK</b>	
5.1. Suicidum vizsgálata magyar Huntington choreás betegek körében	17.
5.2. Modifikáló gének vizsgálata Huntington choreás betegek körében	19.
5.3. Az S18Y polimorfizmus vizsgálata az UCHL1 génben	19.
5.4. Spinocerebelláris heredoataxiás betegek vizsgálata ICARS skálával	21.
5.5. Új ataxia beosztás, a SARA használata heredoataxiás betegeken	22.
5.6. Nem ataxiás tünetek vizsgálata SCA-s betegeken	23.
5.7. SCAFI – új funkcionális index a teljesítmény mérésére ataxiás betegeken	28.
<b>6. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE</b>	
6.1. A suicidált Huntington choreás betegek vizsgálata	29.
6.2. A modifikáló gének vizsgálata Huntington choreás betegek körében	29.
6.3. Az S18Y polimorfizmus vizsgálata az UCHL1 génben	30.
6.4. Spinocerebelláris heredoataxiás betegek vizsgálata ICARS skálával	30.
6.5. A SARA eredményei heredoataxiás betegeken	31.
6.6. Nem ataxiás tünetek vizsgálata SCA-s betegeken	32.
6.7. SCAFI – új funkcionális index a teljesítmény mérésére ataxiás betegeken	33.
<b>7. ÖSSZEFOGLALÁS – ÚJ EREDMÉNYEK</b>	34.
<b>8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK</b>	35.
<b>9. IDÉZETT IRODALOM</b>	37.
<b>10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b>	50.
<b>11. FÜGGELÉK (SARA, INAS, UHDRS, FC-CRF2 TESZTEK)</b>	51.

## **RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE**

8MW: 8m walk (a végrehajtási idő másodpercekben megadva)

9HPT: 9-hole peg test (a végrehajtási idő másodpercekben megadva)

FRDA: Friedreich ataxia

MSFC: Multiple Sclerosis Functional Composite

PATA: beszéd sebesség mérési vizsgálat, a PATA szó ismétlésének száma 10 másodperc alatt

SARA: Scale for the Assessment and Rating of Ataxia

SCA: spinocerebelláris ataxia

SCAFI: SCA Composite Functional Index

SD: standard deviáció

UHDRS-IV: Unified Huntington's Disease Rating Scale functional assessment, part IV

ICARS: International Cooperative Ataxia Rating Scale

INAS: Inventory of Non-Ataxia Symptoms

HD: Huntington's disease (Huntington chorea)

ADCA: Autoszomális domináns cerebelláris ataxia

DRPLA: Dentato-rubral-pallidoluysian atrophy

## 1. BEVEZETÉS

A trinukleotid repeat betegségek kutatása az 1990-es évek eleje óta a neurogenetika egyik legdinamikusabban fejlődő területét képezi, melyben számos különböző klinikai kórkép molekuláris genetikai hátterének felderítésére került sor. A betegségek között előfordul a már gyermekkorban jelentkező, mentális retardációt okozó kórkép, mint a fragilis X szindróma vagy a szintén gyermekkorban jelentkező spinobulbáris musculáris atrophia (Kennedy-betegség). Ide tartozik a Huntington chorea, a leggyakoribb autoszomális domináns öröklődés menetű neurológiai kórkép, valamint a spinocerebelláris heredoataxiák családja, melyek közül egyre többnek tisztázott a genetikai háttere.

Munkánk első részeként a Huntington chorea klinikai jellemzőit vizsgáltuk, annak egy gyakran említett, de ritkán vizsgált specifikumát, az öngyilkos magatartás előfordulását a betegek körében. A Huntington chorea esetében ismert, hogy negatív korreláció áll fenn a betegséget okozó mutáció hossza, illetve a betegség kialakulásának kezdete között. Ezért vizsgáltuk a betegség kialakulásának időpontját befolyásoló más gének előfordulását, illetve ezek mutációinak megoszlását a betegek körében.

Nemzetközi kooperáció keretében alkalmunk nyílt részt venni 2004 és 2008 között az EUROSCA nevű EU6 támogatott projectben, mely kilenc ország, huszonekét munkacsoportja által szervezett konzorcium. A klinikai ág elsődleges célja a spinocerebelláris ataxiák (SCA) diagnosztizálása, kutatása, és az előrehaladás függvényében esetleges elvek és konkrét javaslatok kidolgozása. Ennek keretében került sor a világ legnagyobb SCA-s betegcsoportjának összegyűjtésére, az európai SCA regiszter (EUROSCA-R) létrehozására, standardizált adatfeldolgozási előírásokkal. Az adatbázis lehetővé tette egyrészt a korábban kidolgozott klinikai vizsgáló módszerek felülvizsgálatát, illetve annak eredményeinek figyelembevételével egy új, a klinikum követelményeinek jobban

megfelelő, a betegség tulajdonságait inkább előtérbe helyező, új vizsgáló módszer kidolgozását. Ennek kritériumait követve kezdtünk el egy több évre kiterjedő betegkövetési vizsgálatot (Natural History Study).

Az EUROSCA projectben zajló vizsgálatok a Pécsi Orvostudományi és Egészségtudományi Kar Régióális Kutatásetikai Bizottsága által 2003. november 28-án elfogadott engedély, a biobankoláshoz kapcsolódó tevékenység az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (ETT TUKÉB) 2004. február 18-án elfogadott engedélye alapján történt.

## **2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS**

### **2.1. A trinukleotid repeat betegségek**

A trinukleotid repeat betegségek kutatása az 1990-es évek eleje óta a neurogenetika egyik legdinamikusabban fejlődő területét képezi, melyben számos, különböző klinikai kórkép molekuláris genetikai hátterének felderítésére került sor. Ebbe a csoportba tartozik a fragilis X szindróma (1), a Kennedy-betegség (2), a dentato-rubral-pallidolusian atrophia (DRPLA) (3), a Friedreich ataxia (4), valamint az autoszomális domináns öröklődésű Huntington chorea (5) és az autoszomális domináns öröklődésű ataxiák (ADCA) genetikailag egyre jobban bővülő köre (6, 7, 8, 9).

A betegségeket okozó trinukleotid repeatek közül leggyakoribb a CAG triplet, amely a glutamin aminosavat kódolja és ismétlődése egy poliglutamin láncot eredményez. Ebbe a csoportba tartozik az általunk részletesebben vizsgált Huntington chorea, valamint a spinocerebelláris heredoataxiák többsége.

### **2.2. Huntington chorea**

A kórképet 1872-ben George Huntington írta le. A betegség átlagosan 30-40 éves korban kezdődik. Először progresszív mozgászavar lép fel, akaratlan mozgások (chorea) jelentkeznek, majd mentális zavarok alakulnak ki, kognitív hanyatlás kíséri (10). A betegség előfordulását átlag 3-10/100000 főben adják meg (11). A betegséget okozó gént a 4. kromoszóma rövid karjára lokalizálták, amely egy CAG repeat expanziót tartalmaz. Ennek a meghosszabbodása okozza a betegség kialakulását. Egészséges személyekben az ismétlődés szám 12-38 között mozog, míg a betegekben 40 feletti (5). Ismert az a jelenség is, hogy a normális és a betegséget okozó repeat szám között egy intermedier tartomány létezik, vagyis átfedés van közöttük (12).

Kórszövettanilag jellemző a nucleus caudatusban és a putamenben kialakuló sejtpusztulás, kisebb mértékben a globus pallidum és corticalis területek is érintettek lehetnek. Összefüggést találtak a tünetek progressziója és a sejtpusztulás mértéke között (13). A kóros gén által termelt huntingtin fehérje aggregátumait mutatták ki a kéregben és a striatumban (14).

A Huntington-kór esetében a 38-nál több glutamin ismétlődés okozza a betegséget. Az expandált glutamin ismétlődéseket tartalmazó huntingtin részek in vitro oldhatatlan aggregátumokat képezhetnek, míg a normál mennyiségű glutamint tartalmazó minták oldhatóak maradnak (15). Már a kórképet leíró George Huntington is említette a betegeknél észlelhető nagyfokú suicid készletést. A korábban elvégzett vizsgálatok szintén az öngyilkosság magasabb előfordulását mutatták a betegek között (16, 17, 18).

A CAG repeat expanzió hossza és a betegség kialakulásának kezdete közötti negatív korreláció a különböző tanulmányok szerint a kialakulás kezdetével 42-73 %-ban mutat összefüggést (19, 20, 21). A különbség többi részéért más genetikai faktorok, illetve környezeti tényezők felelősek. A homogénnek tekintett venezuelai populációban – melynek genetikai feltérképezése révén vált lehetővé a huntingtin gén felfedezése (22) – a CAG repeatszám és a kezdeti életkor közötti összefüggés tekintetében 38 %-os korrelációt állapítottak meg. A genom vizsgálatok modifikáló gének jelenlétét sugallták a 4. és 6. kromoszómán (4p16, 6p21-23 és 6p24) (23). Rosenblatt és munkatársai (24) szerint a repeat hosszúságon kívül további 11-19 % az, ami más genetikai faktorokkal magyarázható. Számos tanulmány mutatta ki a TAA repeat hatását a glutamát receptort kódoló gén (GRIK2 gén) 3' nem transzlálódó régiójában (25, 26, 27), mely a kezdeti életkor variációjának 2-4 %-ért lenne felelős. Más tanulmányok az apolipoprotein E $\epsilon$ 2 $\epsilon$ 3 genotípusnak (28), a transzkripció koaktivátor CA150 gén polimorfikus (GlnAla)<sub>38</sub> régiójának (25), valamint az NMDA receptor génnek tulajdonítanak hasonló szerepet (29).

### 2.3. Spinocerebelláris heredoataxiák

Az autoszomális domináns öröklődésű cerebelláris ataxiák hereditár neurodegeneratív betegségek, melyeket spinocerebelláris ataxiaknak nevezünk. Kiváltó okuk a cerebellum és a hozzá kapcsolódó afferens és efferens pályarendszerek degeneratív elváltozása. A bekövetkező sejtpusztulás klinikailag a motoros működések koordinációjának zavarában, beszédzavarban, szemmozgás-zavarban, ritkán látáscsökkenésben manifesztálódik (30). Előfordulási gyakoriságukat kb. százezerből három esetre becsülik (31). Az eddig vizsgált populációkban gyűjtött adatok alapján az SCA3 a leggyakoribb altípus világszerte; míg az SCA1, SCA2, SCA6, SCA7 és SCA8 gyakorisága 2% fölötti, a többi változat kifejezetten ritkának számít, gyakoriságuk kisebb, mint 1% (32).

A mai napig fenotípusos jellemzői alapján 24 autoszomális domináns ataxiát mint az SCA1-8, 10-19, 21-23, 25 és 28, valamint a klinikai tünetek alapján ebbe a csoportba sorolható dentatorubral-pallidolúysian-atrophiát (DRPLA) és a fibroblaszt növekedési faktor 14 génje (FGF14) által okozott ataxiát azonosították, mint az autoszomális domináns ataxiák jellemző képviselőit. Közülük 13 kórkép génje, illetve azok kóros mutációja ismert. Hat SCA-altípust (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, és SCA17), valamint a DRPLA-t, a CAG trinukleotid-ismétlődések számának kóros megnövekedése okozza az adott betegség génjében. Miután a CAG glutamint kódol, ez a fehérjében a glutamin-ismétlődések számának megnövekedését vonja maga után. Ezért ezeket a betegségeket poliglutamin-expansziós betegségként is említik.

Egyes extrém ritka SCA-típusok patomechanizmusa eltér az általános tripletexpansziós sémától. Így, az SCA12-ben a PPP2R2B gén kódoló régiójában található, az expanszió esetén bizonyosan patológiás szereppel bíró CAG-ismétlődéseken kívül a gén 5' régiójában található egy több, mint 66 ismétlődésből álló CAG-szakasz, aminek az esetleges patológiai szerepére nincs egyértelmű



bizonyíték (33), azonban bizonyosnak tűnik, hogy ez az utóbbi régió nem kódol poliglutamin láncot (34). A vélhetőleg nagyon ritka SCA8 esetében az sem biztos, hogy az instabil és megsokszorozódott CTG-ismétlődés vagy más mechanizmus játszik-e tényleges szerepet a betegség kialakulásában (35). Két autoszomális domináns ataxiát pontmutáció okoz: FGF14-mutáció okoz SCA-fenotípust (36), SCA14-családok esetében pedig a protein kináz  $C\gamma$  génjének (PKC $\gamma$ ) mutációit azonosították (37).

A CAG-repeatek expanziója által okozott SCA-altípusok esetében a betegség életkor szerinti megjelenése fordítottan arányos az ismétlődések számával (38, 39), vagyis minél nagyobb számú a megsokszorozódás, a tünetek annál korábban jelennek meg; ez hasonló a Huntington-betegségben is ismertekhez. A rövidebb triplet ismétlődések esetében sokszor a betegség penetranciája is kisebb, és így ezeket az eseteket gyakran tüntetik fel sporadikusként (40). Nagyon fontos körülmény, hogy az expandált ismétlődések instabilak és hajlamosak meiózis során a nagyságuk megváltoztatására, többségében a további megsokszorozódásra. Emiatt a poliglutamin-ismétlődéssel járó domináns ataxiák a Mendel-szabályoktól eltérő öröklődést mutatnak, és ebből fakadóan előfordulhat, hogy a későbbi generációkban a betegség korábban jelenik meg és a tünetek is súlyosabbak.

A legtöbb, a különféle gének kódoló régiójában található CAG ismétlődés expanziója által okozott SCA esetében az érintett fehérje alapvető biokémiai funkciója mindezidáig ismeretlen. Ez alól kivétel az SCA6, amely esetében a P/Q-típusú kalciumcsatorna  $\alpha_{1A}$  alegysége, valamint az SCA17, melynél egy TATA-box-kötő fehérje (TBP) károsodik. A poliglutamin láncok kivételével az érintett fehérjéknek nincsenek közös szekvenciái vagy doménjei, így azt valószínűsíthetjük, hogy a patogenezisben közvetlenül az expandált poliglutaminszakaszoknak van szerepük (41). A fehérjeaggregátumok valamennyi poliglutamin-betegségben jelen vannak. Kevés kivételtől eltekintve (42), ilyen fehérjeaggregáció jellemző az SCA-betegek érintett agyi régióinak neuronjaiban (43, 44, 45),

legfőképp a sejtmagokban. Jóllehet, a patogén poliglutamin-fehérjék a legtöbb szövetben kimutathatóak, az agy különleges érzékenységet mutat károsodás kialakulása tekintetében. Nagy valószínűséggel a különböző idegsejt típusok és az egyes mutáns fehérjék között az adott sejttípusra specifikus kóros reakció jöhet létre (30). A patológiás történések tekintetében szintén fontosnak tűnik a poliglutamin-fehérjék lokalizációja a sejtekben. Ugyanis míg az ataxinok eredetileg citoplazmatikus elhelyezkedést mutatnak, ugyanakkor a neurodegeneráció beindításában nukleáris transzportjuk kulcsfontosságú lehet (46). A nukleáris zárványok összetételéről ismert, hogy azok csupán a fehérje poliglutaminban gazdag részét tartalmazzák (47). Az aggregátumok kialakulása összeköttetésben van az ubiquitin-proteasóma eliminációs rendszerrel (48). Az ubiquitináció a sejtekben, a proteasóma által lebontandó fehérjék előkészítésére szolgál. A rendszer valószínűleg szaturálódik a lebontandó poliglutaminált fehérjékkel, mindenesetre az ubiquitin, akárcsak néhány proteasóma alegység, szintén megtalálható a neuronális zárványokban (49, 50). Állatkísérletes adatok arra utalnak, hogy az ubiquitin komplex kialakulásának gátlása után a zárványok száma ugyan csökken, a neurodegeneráció azonban tovább folytatódik. A mutáns fehérjék önmagukban jóval toxikusabbnak tűnnek, ha nincsenek zárványokban elkülönítve, így azok képződése esetleg egy, az expandált poliglutamin-fehérjékkel szembeni védőmechanizmus része lehet (51).

A spinocerebellaris ataxiák klinikai tünetei széles spektrumot ölelnek fel: törzsi és végtagi ataxia, cerebellaris dysarthria, cerebellaris és supranuclearis eredetű oculomotoros zavarok, retinopathia, opticus atrophia, spaszticitás, extrapiramidális mozgászavar, perifériás neuropathia, sphincterzavar, kognitív károsodás és epilepszia egyaránt kifejlődhet, tehát mind ataxia, illetve ahhoz nem köthető tünetek is jelen lehetnek (30). A pontos diagnózis felállítását rendkívüli mértékben megnehezítheti az egyes típusok közti átfedés és a különféle genetikai típusokon belül a klinikai tünetek változékonysága. Ahogyan az 1. táblázatban

látható, jelentős számú olyan SCA-típus ismert, amelyek fennállását eddig csak egyetlen családban igazolták. Ez természetesen nem jelenti azt, hogy további esetek előfordulása nem lehetséges, azonban azok a mai ismereteink szerint bizonyosan nem tekinthetők gyakori kórformának (32).

## 1. táblázat

*A spinocerebellaris ataxiák összefoglaló táblázata*

Betegség neve	Gén, géntermék	Lókuszt	Megjegyzés
SCA1	SCA1, ataxin 1	6p23	
SCA2	SCA2, ataxin 2	12q21	
SCA3	MJD, ataxin 3	14q24.3-q31	Machado-Joseph betegség
SCA4	—	16q22.1	Amerikai, japán és német családok
SCA5	—	11p11-q11	Amerikai („Lincoln család”) és német családok
SCA6	SCA6, CACNA1A	19p13	
SCA7	SCA7, ataxin 7	3p21.1-p12	
SCA8	SCA8	13q21	
SCA9	Nem ismert		
SCA10	SCA10, ataxin 10	22q13	Mexikói családok
SCA11	—	15q14-q21.3	nagy-britanniai előfordulás
SCA12	SCA12	5q31-q33	
SCA13	—	19q13.3-q13.4	Egy francia család
SCA14	SCA14, PKCg	19q13.4.qter	
SCA15	—	3p24.2.pter	Egy ausztrál család
SCA16	—	8q22.1-q24.1	Egy japán család
SCA17	TBP, TATA-boksz-kötő fehérje	6q27	
SCA18	—	7q22-q32	Egy ír-amerikai család
SCA19	—	1p21-q21	Egy holland család
SCA20	—	nem pontosított	
SCA21	—	7p21-15	Egy francia család
SCA22	—	1p21-q23	Egy kínai család
SCA23	—	20p	Egy holland család
SCA24	—	nem pontosított	
SCA25	—	2p15-21	Egy francia család
SCA28	-	18p11.22-q11.2	Egy olasz család
DRPLA	DRPLA, atrophin-1	12p13.31	

### **3. CÉLKITŰZÉSEK**

1. A Huntington choreás betegek körében végzett vizsgálatainknál célkitűzésünk volt a betegek demográfiai, pszichés tüneteinek vizsgálata különös tekintettel a suicidumra.

2. A genetikai vizsgálattal alátámasztott Huntington choreás betegek esetében a módosító gének szerepének feltárása volt további célunk: S18Y polimorfizmus az UCHL1 génben, valamint a GRIK2, TBP, BDNF, HIP1 és ZDHHC17 gének polimorfizmusának vizsgálata.

3. A már korábban kidolgozott ICARS (International Cooperative Ataxia Rating Scale) skála klinikai használhatóságának, illetve validitásának vizsgálata egy SCA-s betegcsoporton, azt kutatva, hogy más tényező (funkcionalitás) bevonása miként befolyásolja a vizsgálati eredményt.

4. Új vizsgálati rendszer SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) kidolgozása az ataxia vizsgálatára és értékelésére.

5. Vizsgáltuk a nem ataxiához kapcsolódó tüneteket, azok megoszlását, illetve más, a betegség lefolyását befolyásoló faktorokkal fennálló kapcsolatát.

6. SCA Functional Index: új mérési módszer kidolgozása a funkcionális teljesítőképesség vizsgálatára.

## **4. MÓDSZEREK**

### **4.1. Vizsgálatban résztvevő betegek**

#### **Huntington choreás betegek**

Az eseteket számos forrásból vettük: Baranya, Győr-Moson-Sopron, Somogy, Tolna, Vas, Veszprém és Zala megyék összes neurológiai és pszichiátriai osztálya anyagának áttekintésével valamint öt másik kórház: Baja, Kalocsa, Kecskemét (Bács-Kiskun), Dunaújváros és Székesfehérvár (Fejér) dokumentációjának áttekintésével. A vizsgálatba bevont intézmények beteg dokumentációja átlagosan 32 évre visszamenőleg volt átvizsgálható. Pszichiátriai és szociális otthonokat kértünk fel a náluk kezelt, ismert, illetve lehetséges Huntington choreas betegek dokumentációjának elküldésére, valamint házi orvosokat kértünk fel, hogy küldjék el az általuk ismert családok adatait. Az általunk vizsgált betegek és személyek részletes felvilágosítást követően beleegyezésüket adták a kutatáshoz.

#### **A modifikáló gének vizsgálata Huntington choreás betegek körében**

Felvilágosítás és beleegyező nyilatkozat aláírása után 98 betegről történt mintavétel. Ez a 98 beteg volt az általam gyűjtött minta, melyek klinikai vizsgálatát, illetve a genetikai vizsgálathoz szükséges adatfelvételt végeztem el. A repeat szám meghatározásokra, valamint az allélpolimorfizmusok vizsgálatára a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézetében és a Tübingeni Egyetem Orvosi Genetikai Intézetében került sor.

#### **Spinocerebellaris heredoataxiás betegek vizsgálata ICARS skálával**

Az SCA betegek kezelésére jelenleg hatékony terápia nem létezik. Azért,

hogy a potenciálisan új terápiák klinikai hatását mérni lehessen, korábban kialakítottak egy klinikai vizsgálati skálát, az International Cooperative Ataxia Rating Scale-t (52). Ez a skála szemikvantitatív mérési módszerként a cerebelláris tünetek mérésére szolgál. A beosztás négy alskálát tartalmaz egy 100-as összértékkel: állás és járászavarok (1-7 pont, érték 0-34 pontig), mozgásfunkciók (8-14 pont, érték 0-52 pontig), beszédzavarok (15-16 pont, érték 0-8 pontig), szemmozgás-zavarok (17-19 pont, érték 0-6 pontig). A beosztás célja az volt, hogy elkülönítve lehessen vizsgálni az ataxia különböző komponenseit.

A skála felhasználhatóságát 156 SCA-s betegen és 8 egészséges kontrollon vizsgálták 13 európai centrumban (Bonn, Párizs, Veszprém, Innsbruck, Brüsszel, Milánó, London, Tübingen, Frankfurt, Nijmegen, Varsó, Bochum, Pécs). Ebből 15 beteg volt az általam vizsgált, ebből 8 SCA2-es, 5 SCA1-es, 2 ismeretlen típusú. A betegek beválasztási kritériumai a következők voltak: progresszív ataxia, pozitív genetikai vizsgálati eredmény egy ismert SCA típus esetében, vagy klinikailag ismert autoszomális domináns öröklésű ataxia. A funkcionális képességek vizsgálatára a Barthel-indexet használtuk. Kilencvenhét beteget párhuzamosan vizsgált egy-egy helyi és egy központi személy (Tanja Schmitz-Hübsch, Universität Bonn). Az ellenőrzéseket egymástól függetlenül végezték el. Tizenhárom beteget kétszer teszteltek rövid időintervallumon belül.

### **SARA; Scale for the assessment and rating of ataxia: egy új vizsgálati módszer kidolgozása**

A SARA eredeti formájában egy 9 pontból álló vizsgálati skála, melyből egyik a szemmozgás-zavarokat vizsgálta, a kísérleti eredmények alapján ezt végül kizárták. Végző formájában 8 tünetet vizsgál, amelyeket összesen 0-40-ig egy pontszámmal értékel (nincs ataxiától a legsúlyosabb ataxiáig). Az egyes tünetek: járás (0-8), állás (0-6), ülés (0-4), beszédzavar (0-6), ujjmozgás (0-4), ujj-orr kísérlet (0-4), kéz gyors alternáló mozgása (0-4), térd-sarok kísérlet (0-4). A végtag

kísérleteket mindkét oldali végtagon vizsgálják és a számtani középértéket adják meg (53).

Az első vizsgálatban 167 SCA-s beteg (23 fő SCA1, 56 fő SCA2, 23 fő SCA3, 18 fő SCA6, 7 fő SCA7, 2 fő SCA14, 1 fő SCA17, 29 fő ismeretlen típus, 8 fő kontroll), illetve a másodikban 119 beteg (15 fő SCA1, 28 fő SCA2, 26 fő SCA3, 19 fő SCA6, 8 fő SCA7, 1 fő SCA14, 3 fő SCA17, 1 fő SCA23, 18 fő ismeretlen típus és 110 fő kontroll) vett részt. Az első kísérletben a SARA értéket a betegség stádiumával, az ICARS értékkel és a Barthel-indexszel hasonlították össze, míg a második kísérletben a betegség stádiumával, Barthel-indexszel és az UHDRS-IV-el vetették össze. A betegség stádiumokat Klockgether és munkatársai által kidolgozott skála alapján használták (54). Harmadikként a második kísérletben készült videofelvételeket egy vizuális analóg skálán értékelték a vizsgálók 0-tól 100-ig (0: nincs ataxia, 100: legsúlyosabb fokú ataxia).

### **Nem ataxiás tünetek vizsgálata SCA-s betegeken**

Összesen 526 SCA1, SCA2, SCA3 és SCA6 típusba tartozó beteget vizsgáltak 17 európai centrumban: Bonn, Párizs, Tübingen, London, Pécs, Nápoly, Milánó, Varsó, Bochum, Santander, Nijmegen, Essen, Innsbruck, Brüsszel, Frankfurt, Göttingen, Veszprém. Az 526-ból 31 beteg teljes vizsgálatát végeztem el kizárólagosan, ebből 14 volt SCA1-es, 15 SCA2-es és 2 SCA3-as típusba tartozó. Az INAS skála (Inventory of Non-Ataxia Symptoms) 16 tünetet vizsgál 30 pontban. A 16 tünet: areflexia, hyperreflexia, pyramisjel, spaszticitás, paresis, amyotrophia, fasciculatio, myoclonus, rigiditás, chorea, dystonia, nyugalmi tremor, sensoros tünetek, agytörzsi szemmozgászavar (horizontalis és verticalis ophthalmoparesis, lassú szakkádok, kettős látás), vizelettartási probléma és kognitív zavar. Azokat a tüneteket, amelyek több pontban is jelen vannak, akkor veszik pozitívnak, ha legalább egyszer jelen vannak. Az INAS érték így 0-16-ig terjedő, dimenzió nélküli számértéket ad.

Az 526 betegből 450-nél volt a DNS vizsgálat megismételhető, mely a Tübingeni Egyetem Humán-genetikai Intézetében készült el. A repeatszámokat 53 beteg esetében az orvosi dokumentációból vették, míg a maradék 23-nál hiányoztak a repeatszámok. Emellett a betegeknél vizsgálták az ataxia tüneteket is, a SARA vizsgálati módszerrel.

### **SCAFI – új funkcionális index a teljesítmény mérésére ataxiás betegekben**

A 15 európai centrumban (Bonn, London, Tübingen, Veszprém, Nápoly, Milánó, Varsó, Bochum, Santander, Nijmegen, Essen, Varsó, Brüsszel, Frankfurt, Göttingen) 412 SCA-s (SCA1, SCA2, SCA3 vagy SCA6) beteget vizsgáltak a SARA, UHDRS-IV, 9HPT, 8MW és PATA tesztekkel. Ebből 31 beteg vizsgálatát végeztem el, 14 SCA1-es, 15 SCA2-es és 2 SCA3-as típusba tartozó volt. A kognitív hanyatlást a vizsgálók becslése alapján mérték, mint enyhe, közepes és súlyos. A kísérleteket (9HPT, 8MW, PATA) egy alkalommal megismételtük. A két oldal (jobb és bal) eredményeit átlagolták. Az egyes teszteredményekből (PATA, a HPT és 8MW reciproka) egy-egy Z értéket alkottak ( $Z = \frac{\text{egyéni átlag} - \text{populáció átlag}}{\text{populáció SD}}$ ). A három Z érték számtani középértéke adja meg a funkcionális indexet (SCAFI). A magasabb Z érték mindhárom kísérletben jobb teljesítményt jelentett. A statisztikai analízishez SPSS 14.0 Windows (SPSS Inc. 2005) programot használtak.

### **4.2. Alkalmazott molekuláris genetikai módszerek**

A genetikai vizsgálatokat a Huntington choreas betegeknél a Tübingeni Egyetem Orvosi Genetikai Intézetében végezték el, részletes leírásukat a publikációk tartalmazzák (55, 56). Az SCA-betegek genetikai vizsgálatára a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézetében került sor.



### **4.3. Alkalmazott statisztikai módszerek**

Az allélfrekvencia, genotípusfrekvencia valamint az átlagéletkor meghatározásához a JMP Version 5.1 programot használtuk. AZ ICARS skála vizsgálatánál az SAS 8.1 statisztikai programcsomagot használtuk. Az adatokat átlag + standard deviációban adtuk meg rangedzsel. A SARA skálánál standard deviációt mértünk, valamint regressziós analízis készült.

## 5. EREDMÉNYEK

### 5.1. Suicidum vizsgálata magyar Huntington choreás betegek körében

Az 1920 és 1997 között bekövetkezett haláleseteket vizsgáltuk, 96 HD-s család adatait dolgoztuk fel. A vizsgálati periódusban 396 (195 férfi és 201 nő) beteg halt meg ezekben a családokban. A családok méretét a 2. táblázat tünteti fel (57).

#### 2. táblázat

*Huntington choreás családok mérete és a suicidum közötti kapcsolat*

Ismert HD-s beteg a HD-s családban	HD-s családok száma	Suicid esetek száma /HD-s családok suicidummal	Suicid esetek száma/halálesetek száma
1	1(1)	—	—
2–5	63 (65)	14/12	14/168
6–10	25 (26)	16/9	16/151
11–15	5 (6)	6/4	6/47
16–20	1 (1)	2/1	2/13
>20	1 (1)	2/1	2/17
Összes (%)	96 (100)	40/27	40/396

A 27 családban összesen 40 befejezett suicidum esemény vált ismertté a halálokok átvizsgálásával. A nagyobb családokban a suicidum gyakrabban fordult elő. A közeli hozzátartozók (szülő-gyerek, testvérek) közötti suicidum összesen 4 családban, 9 esetben fordult elő. A 40 betegből, aki öngyilkos lett, 34 volt férfi és 6 nő, amely arány nem tér el szignifikánsan a magyar normál populáció adataitól (58). A 396 halálesetből 98 történt kórházban, ezekből 4 beteg lett öngyilkos. A betegség átlagosan 40,4 éves korban kezdődött, az öngyilkosok körében ez az érték 37,8 év (eltérés statisztikailag nem szignifikáns). A HD-s betegeknél a halál ideje 54,2 éves életkor volt, míg az öngyilkosoknál 44,2. A férfibetegeknél az

öngyilkosok aránya 16 % volt, míg a nőknél 3 %. Az öngyilkosság módszerei lényegesen eltértek a normál populációkban ismertekből (3. táblázat). A normál populációban az öngyilkosság leggyakoribb módszere az önakasztás, míg a HD-s betegeknél a fulladás volt; a férfiaknál gyakori volt a lőfegyver használata, vagy a vonat elé ugrás. A mérgezéseknél inkább vegyszereket használtak, nem úgy, mint a normál populációkban, ahol a gyógyszerek elterjedtebbek (57).

### 3. táblázat

*Az öngyilkosság módszerei a HD-s betegeknél*

	Férfi	Nő	Összes (%)
Fulladás	9	2	11 (27)
Önakasztás	7	2	9 (23)
Mérgezés	8	1	9 (23)
Ebből: Gyógyszer	2	1	
Gáz	2	—	
Vegyszerek	4	—	
Ablakon kiugrás	4	1	5 (12)
Jármű elé ugrás	4	—	4 (10)
Lőfegyver	2	—	2 (5)
Összes (%)	34 (85)	6 (15)	40 (100)

## 5.2. Módosító gének vizsgálata Huntington choreás betegek körében

Az egyes polimorfizmusoknak a betegség kialakulásának időpontjára gyakorolt hatását vizsgáltuk a ZDHHC17 (N384S, g.-886A>C és g.-844G>T genotípusok), a GRIK2 (TAA repeat polimorfizmus), a TBP (CAG repeat polimorfizmus), a BDNF (V66M) valamint a HIP1 génekben, 980 beteg esetében (4. táblázat) (55). A gének kiválasztása korábbi irodalmi felvetések alapján történt.

### 4. táblázat

*A lehetséges modifikáló gének varianciaanalízise*

Vizsgált összefüggés	R <sup>2</sup>	ΔR <sup>2</sup>	p érték
HD CAG	0,5274	—	<0,0001
HD CAG + normal CAG (htt)	0,5289	0,0015	0,0861
HD CAG + GRIK2 genotípus	0,5374	0,0100	0,7986
HD CAG + TBP genotípus	0,5510	0,0236	0,4484
HD CAG + TBP CAG <sub>exp</sub>	0,5276	0,0002	0,9226
HD CAG + BDNF V66M	0,5302	0,0028	0,6450
HD CAG + HIP14 N384S	0,5290	0,0016	0,3149
HD CAG + HIP14 g.-886A>C	0,5350	0,0076	0,7118
HD CAG + HIP14 g.-844G>T	0,5358	0,0084	0,3905

## 5.3. Az S18Y polimorfizmus vizsgálata az UCHL1 génben

Az UCHL1 gén korábbi vizsgálatok eredménye szerint befolyásolja a betegség kialakulásának időpontját a HD-ben (59). Összesen 946 HD-s beteg esetében vizsgáltuk a CAG repeat és az S18Y polimorfizmus összefüggését (56). Vizsgáltuk az S18Y genotípus hatását expandált CAG repeat-tel együtt a HD kialakulásának időpontjára. Ez az analízis szignifikáns volt az S18Y (p=0,008) és a

CAG repeat-tel való interakciójára ( $p=0,007$ ). Amikor különböző korcsoportokat állítottunk fel, egy küszöbértéket találtunk az 50-es CAG repeat számnál. Az S18Y polimorfizmus szignifikáns hatást mutatott a HD-s betegek betegségének kialakulásának kezdetére ( $p=0,001$ ), ha a repeatszámokat két alcsoportba osztottuk, mint 50-nél hosszabb és 50-nél rövidebb repeatszámok. A kezdeti életkoroknak az egyes altípusokkal való korrelációját (5. táblázat) vizsgálva azt találtuk, hogy az SS és SY genotípusok protektív hatásúak a hosszabb, 50-nél nagyobb CAG repeat-ek jelenlétében (56).

## 5. táblázat

*Átlagos kezdeti életkor a különböző HD-s alcsoportokban*

	Betegszám (db fő)	Átlagos kezdeti életkor $\pm$ SD
<50 CAG ismétlődés		
Genotípus SS	524	47,6 $\pm$ 12,0
Genotípus SY	241	48,6 $\pm$ 12,2
Genotípus YY	45	48,0 $\pm$ 11,1
>50 CAG ismétlődés		
Genotípus SS	91	28,8 $\pm$ 8,2
Genotípus SY	39	29,3 $\pm$ 9,9
Genotípus YY	6	20,3 $\pm$ 11,5

S normál allél, Y mutáns allél

#### 5.4. Spinocerebellaris heredoataxiás betegek vizsgálata ICARS skálával

A vizsgált 156 betegből 72 volt nő és 84 férfi. Az általam vizsgált betegek száma 15 volt. Az átlagos kezdeti életkor  $49,2 \pm 14,1$  (tartomány: 13-80) év. A betegség tartama  $10,6 \pm 6,9$  (tartomány: 0-37) év. Molekuláris diagnózis 127 betegnél állt rendelkezésre: 55 beteg az SCA2, 23 az SCA1, 23 az SCA3, 18 az SCA6, 6 az SCA7, míg 2 az SCA14 típusba tartozott. Öt férfi és 3 női kontroll volt, az átlag életkoruk  $47,9 \pm 16,2$  év (tartomány: 27-71) év. A betegcsoportban az ICARS érték  $38,9 \pm 18,7$  (tartomány: 7-87) volt. A kontrollok ICARS átlagértéke  $2,1 \pm 1,4$  volt (tartomány 1-5). Az átlagos Barthel-index  $88,1 \pm 20,9$  volt (tartomány: 5-100). Az ICARS értéket a Barthel-index-szel ( $r=-0,70$ ,  $p<0,0001$ ) és a betegség időtartamával korreláltattuk. A 156 személyből 94 volt az ataxia első, 36 a második és 26 a harmadik stádiumában. A kontrollok ataxia értéke 0 volt (6. táblázat) (60).

#### 6. táblázat

*ICARS értékek a kontroll csoportban és az ataxia különböző stádiumaiban lévő SCA-s betegeknél (zárójelben az esetszám ill. a tartomány)*

	0. stádium (n = 8)	1. stádium (n = 94)	2. stádium (n = 36)	3. stádium (n = 26)
Állás- és járászavar	$0,6 \pm 0,7$ (0-2)	$9,9 \pm 4,5$ (1-22)	$20,1 \pm 5,0$ (10-30)	$29,4 \pm 3,0$ (25-34)
Mozgásfunkció	$1,4 \pm 0,9$ (0-3)	$14,4 \pm 7,1$ (3-32)	$20,4 \pm 10,3$ (3-46)	$29,3 \pm 7,8$ (15-45)
Beszédzavar	0	$2,3 \pm 1,5$ (0-8)	$3,2 \pm 1,7$ (0-6)	$4,5 \pm 1,5$ (2-8)
Szemmozgászavar	$0,1 \pm 0,4$ (0-1)	$2,2 \pm 1,9$ (0-6)	$2,2 \pm 1,8$ (0-6)	$2,5 \pm 1,9$ (0-6)
Teljes ICARS érték	$2,1 \pm 1,4$ (1-5)	$28,8 \pm 11,7$ (7-57)	$45,8 \pm 15,6$ (23-81)	$66,0 \pm 9,9$ (49-87)

Az ICARS skála vizsgálatának elvégzése átlagban  $21,3 \pm 7,10$  percet vett igénybe. Az ICARS érték nőtt a betegség stádiumával ( $p=0,001$ ). Az ICARS értékek az 1, 2 és a 3-as stádiumban  $28,8 \pm 11,7$  (tartomány: 7-57),  $45,8 \pm 15,6$  (tartomány: 17-81), és  $66,0 \pm 9,9$  (tartomány: 49-87) voltak. Kontrollokban ez az érték  $2,1 \pm 1,4$  volt (60).

### **5.5. SARA (Scale for the assessment and rating of ataxia): egy új vizsgálóskála kidolgozása**

Az első kísérlet eredménye azt mutatta, hogy nagyfokban megbízható a különböző személyek által végzett vizsgálati eredmények azonossága a járás, állás, ülés, gyors alternáló kézmozgások, térd-sarok kísérlet esetében; ezzel ellentétben a fennmaradó pontoknál ez az érték alacsonyabb volt ( $<0,8$ ). A betegcsoportok klinikai jellemzőit a 7. táblázat mutatja. A második kísérlet eredménye azt mutatta, hogy az átlagos SARA érték  $15,9 \pm 8,5$  (tartomány: 1,5-től - 40-ig). Az átlagos SARA érték a kontroll csoportban  $0,4 \pm 1,1$  volt (tartomány: 0-7,5). A kontrollok 79%-ánál ez az érték 0 volt (53).

### **7. táblázat**

*A SARA vizsgálatban részt vevő betegek klinikai jellemzői (zárójelben a tartomány)*

	I. kísérlet	II. kísérlet	II. kísérlet kontroll
Betegszám	167	119	110
Nő/Férfi	72/89	61/58	67/43
Kor /év/	$49,2 \pm 14,2$ (13-80)	$50,3 \pm 13,2$ (22-81)	$47,1 \pm 15,0$ (19-78)
Betegség időtartama /év/	$10,8 \pm 4,4$ (0-46)	$13,3 \pm 8,3$ (1-43)	
Barthel-index	$88,9 \pm 20,0$ (5-100)	$82,6 \pm 25,8$ (0-100)	$100,0 \pm 0,0$ (100-100)
UHDRS-IV	Nem vizsgált	$16,7 \pm 8,0$ (0-25)	$25,0 \pm 0,0$ (25-25)

A videofelvételek értékelése regressziós analízissel egy lineáris modellt mutatott (SARA:  $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,98$ ; a különbség:  $p < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,72$ ). A SARA érték szoros korrelációt mutatott a Barthel-index-szel ( $r = -0,89$ ;  $p < 0,0001$ ), míg csak egy gyengébb összefüggést a betegség időtartamával ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,0002$ ). A korreláció a betegség időtartama és a SARA érték között szorosabb volt, ha csak az SCA1-es ( $r = 0,74$ ;  $p < 0,003$ ), vagy az SCA3-as ( $r = 0,59$ ;  $p < 0,002$ ) betegeket vizsgáltuk. Ettől eltérő volt az összefüggés az SCA2 ( $r = 0,08$ ,  $p > 0,68$ ) és az SCA6-os ( $r = 0,26$ ;  $p > 0,28$ ) betegek esetében (53).

## 5.6. Nem ataxiás tünetek vizsgálata SCA-s betegeken

A betegek demográfiai adatait, SARA és INAS értékeket a 8. táblázat tartalmazza. A kezdeti életkor az SCA1, SCA2 és SCA3 esetében hasonló, míg az SCA6 esetében lényegesen magasabb volt (54,5 év).

### 8. táblázat

*A nem ataxiás tünetek vizsgálatában résztvevő betegek adatai (átlag  $\pm$  SD).*

	SCA1	SCA2	SCA3	SCA6
Betegszám	117	163	139	107
Férfi/nő	71/46	75/88	73/66	58/49
Kor (év)	46,3 $\pm$ 12,2	46,3 $\pm$ 13,3	48,8 $\pm$ 11,8	64,9 $\pm$ 11,0
Tünetek megjelenésének kezdete (év)	37,0 $\pm$ 10,6	34,9 $\pm$ 12,7	37,1 $\pm$ 11,4	54,5 $\pm$ 10,2
Betegség időtartama (év)	9,5 $\pm$ 5,5	11,3 $\pm$ 6,5	11,6 $\pm$ 5,9	10,4 $\pm$ 6,4
SARA érték	15,6 $\pm$ 9,1	15,8 $\pm$ 8,0	15,1 $\pm$ 8,6	15,0 $\pm$ 6,7
INAS érték	5,0 $\pm$ 2,1	4,6 $\pm$ 2,1	5,2 $\pm$ 2,5	2,0 $\pm$ 1,7



A betegség súlyossága hasonló értékeket mutatott, valamennyi betegcsoportban. A SARA érték, valamint a repeatszámok közötti összefüggéseket, az életkorral, a betegség kialakulásának idejével, a betegség időtartamával való összefüggéseket a 9. táblázat mutatja.

## 9. táblázat

*A SARA érték és a repeatszám, életkor, betegség kialakulásának kezdete (tünetek megjelenése), betegség időtartama közti összefüggés*

	SCA1		SCA2		SCA3		SCA6	
	R	p	R	p	R	p	R	p
Expandált allél hossza	0,02	0,815	0,38	<0,001	0,35	<0,001	-0,20	0,043
Normál allél hossza	-0,15	0,117	-0,04	0,580	0,17	0,056	0,00	0,993
Kor (év)	0,28	0,002	-0,09	0,252	0,08	0,334	0,38	<0,001
A betegség kialakulásának kezdete (év)	-0,03	0,773	-0,28	<0,001	-0,16	0,054	0,08	0,400
Betegség időtartama (év)	0,65	<0,001	0,39	<0,001	0,49	<0,001	0,53	<0,001

A nem ataxiás tünetek megoszlását a 10. táblázat mutatja. A pyramis jelek előfordulása az SCA1-ben, míg a motoros tünetek illetve perifériás idegkárosodás az SCA2-ben volt gyakori. Myoclonus, rigiditás, chorea, dyskinesis, nyugalmi tremor valamennyi csoportban ritkák voltak, kivéve a dystoniát, ami az SCA3-as betegek 23,9 %-ában volt jelen (61).

## 10. táblázat

*A nem ataxia tünetek megoszlása az SCA-s betegek körében*

	SCA1	SCA2	SCA3	SCA6
Hyperreflexia	67,5%	13,2%	40,1%	21,9%
Areflexia	17,9%	64,4%	57,8%	23,8%
Pyramis jel	50,5%	31,0%	41,9%	2,0%
Spasticitás	59,3%	8,9%	44,4%	13,6%
Paresis	22,4%	14,4%	24,8%	5,7%
Izomatropia	29,1%	22,5%	39,0%	10,7%
Fasciculatio	39,1%	38,3%	37,0%	2,8%
Myoclonus	4,3%	13,7%	4,4%	0,0%
Rigiditás	1,7%	7,4%	10,3%	5,7%
Chorea/Dyskinesia	6,8%	6,8%	10,1%	1,9%
Dystonia	12,8%	14,2%	23,9%	4,7%
Nyugalmi tremor	6,8%	14,9%	3,6%	1,9%
Sensoros zavar	62,4%	68,4%	65,6%	48,0%
Vizelettartási problémák	35,0%	40,4%	45,6%	31,1%
Kognitív zavarok	21,5%	25,9%	19,3%	10,5%
Agytörzsi szemmozgászavar	75,9%	90,7%	80,6%	60,2%

A nem ataxiás tünetek, az expandált allélhossz, a betegség kialakulásának ideje, a betegség időtartama, és a SARA értékek közötti összefüggés vizsgálatára regressziós analízist végeztünk, (11. táblázat). SCA1 esetében, a magasabb életkor vizelettartási problémával és kognitív funkciózavarral szövődött. SCA2-nél a hosszabb repeatszámok és a betegség korábbi kezdete megnövelték az agytörzsi

szemmozgás-zavarok, illetve az izomatropia előfordulását. A hosszabb repeatszámok továbbá choreával/dyskinesiaival és dystoniával kapcsolódtak. Az SCA3 esetében a nagyobb repeatszámok spasticitással és hyperreflexiával kapcsolódtak. SCA6 esetében a magasabb életkorral, későbbi kezdettel és hosszabb betegség tartammal több tünet szövődött. Az INAS érték az SCA1, SCA2, SCA3 csoportokban egyformának bizonyult, míg az SCA6 esetében jelentősen alacsonyabb volt (8. táblázat). Az INAS érték pozitív korrelációt mutatott a betegség időtartamával valamennyi betegcsoportban (61).

## 11. táblázat

*Minden nem ataxia tünet regressziós analízise, ahol a független változók az expandált allélhossz, a betegség kialakulásának kezdete, a kor, a betegség időtartama. A táblázat csak a Bonferroni korrekció ( $p < 0,0031$ ) utáni szignifikáns értékeket tünteti fel.*

Genotípus	Faktor	Tünet	OR (95%)	p
SCA1	Életkor	Vizelettartási problémák	1,046 (1,016-1,078)	0,0030
		Kognitív zavarok	1,060 (1,024-1,096)	0,0010
SCA2	Expandált allél hossza	Izomatrophia	1,232 (1,105-1,374)	<0,001
		Chorea/dyskinesia	1,242 (1,075-1,434)	0,003
		Dystonia	1,216 (1,093-1,353)	<0,001
		Agytörzsi szemmozgás-zavar	2,053 (1,417-2,976)	<0,001
	Kezdeti életkor	Izomatrophia	0,933 (0,902-0,966)	<0,0001
		Agytörzsi szemmozgás-zavar	0,899 (0,86-0,939)	<0,0001
SCA3	Expandált allél hossza	Hyperreflexia	1,21 (1,075-1,362)	0,002
		Spasticitás	1,333 (1,152-1,543)	<0,001
		Agytörzsi szemmozgás-zavar	1,223 (1,077-1,388)	0,002
	Kezdeti életkor	Hyperreflexia	0,935 (0,901-0,971)	0,0005
		Areflexia	1,085 (1,033-1,139)	0,0011
		Spasticitás	0,886 (0,847-0,927)	<0,0001
	Életkor	Hyperreflexia	0,930 (0,900-0,961)	<0,0001
		Areflexia	1,137 (1,067-1,212)	<0,0001
		Spasticitás	0,886 (0,847-0,927)	<0,0001
		Izomatrophia	1,045 (1,016-1,075)	0,0020
	Betegség időtartama	Areflexia	1,118 (1,046-1,195)	0,0011
		Izomatrophia	1,105 (1,035-1,179)	0,0026
Vizelettartási problémák		1,104 (1,037-1,175)	0,0020	
SCA6	Kezdeti életkor	Chorea/dyskinesia	1,129 (1,078-1,182)	<0,0001
	Életkor	Chorea/dyskinesia	1,17 (1,076-1,272)	0,0002
		Nyugalmi tremor	1,069 (1,023-1,117)	0,0029
	Betegség időtartama	Areflexia	1,132 (1,051-1,219)	0,0011
		Pyramis jel	1,057 (1,02-1,096)	0,0024
		Vizelettartási problémák	1,15 (1,072-1,234)	<0,0001

## **5.7. SCAFI – új funkcionális index a teljesítmény mérésére ataxiás betegekben**

Az SCA6-os betegek idősebbek voltak (65,2 év SCA6, míg csupán 47,0 év SCA1-SCA3 esetében). Több mint a betegek fele segédeszköz nélkül hajtotta végre a 8 m-es sétát (58 %). A többség a jobb kezét jelölte meg dominánsként (87 %). A PATA teszt eredménye (1. és 2. kísérlet átlaga) egyformán oszlott meg, egy 20,5-es átlag körül. A 9HPT teszt a domináns kézzel gyorsabban volt kivitelezhető. Valamennyi Z érték negatív korrelációt mutatott a SARA értékkel, amely a legszorosabb a SCAFI, míg legalacsonyabb a PATA tesztérték esetén volt. A SCAFI érték 412-ből 383 esetben, azaz a betegek 93 %-ában volt kiszámítható. Vizsgáltuk a kor, a nem, a kognitív hanyatlás hatását a teszteredményekre. A kornak a SCAFI és a 8MW eredményekre mérsékelt hatása volt, azonban csak az SCA1 és SCA6 típusokban volt ez szignifikáns (Pearson  $r$  -0,328 ill. -0,446). A beteggel folytatott beszélgetésen alapuló UHDRS-IV, amely a funkcionális önállóság mérésére szolgál, párhuzamosan pozitív korrelációt mutatott, vagyis a funkcionális függetlenség mindhárom mérés esetében jobb teljesítménnyel párosult. A három Z érték számtani középértéke adja a SCAFI funkcionális indexet (62).

## **6. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE**

### **6.1. A suicidált Huntington choreás betegek vizsgálata**

A Huntington choreás betegek 10 %-a lett öngyilkos. A vizsgált családok Magyarország nyugati részén élnek, ahol az öngyilkosság kisebb frekvenciával fordul elő, mint az ország keleti részében, így az országra nézve esetleg még nagyobb százalékban valószínűsíthető. Magyarországon 1980-1986 között a százezer lakosra jutó suicid mortalitás 45,3 volt, amivel világelsőséget vívott ki magának. A suicid ráta Magyarországon belül is jelentős eltérést mutat, ahol is a keleti, dél-keleti megyék (Dunától keletre) öngyilkossági halálozása 2,5-3-szorosa a nyugati, észak-nyugati régióknak. Ennek kulturális, gazdasági okait már részletesen feltárták.

A férfiak közötti nagyobb suicid arány a sokkal drasztikusabb módszerek alkalmazásának tudható be. A vizsgált 396 esetből 98 beteg halt meg kórházban, vagy szociális otthonban, közülük csak 4 követett el öngyilkosságot (4/98). Tanulmányunk azt sugallja, hogy az öngyilkosság arányának kórházi dokumentációra való alapozása az értékek alulbecsléséhez vezet (58).

### **6.2. A módosító gén vizsgálatát Huntington choreás betegek körében**

Korábbi tanulmányok a GRIK2 génben található TAA repeathez kapcsolódóan írták le a betegség korábbi kezdetét (24, 25). A szerzők 2-13 % közé teszik azt a variancia arányt, ami nem a huntingtin génben lévő CAG repeatnek, hanem a GRIK2 gén genotípus variációjának tudható be (24, 25). Az általunk észlelt eltérés egyik oka lehet, hogy az általunk használt beteganyag sokkal nagyobb volt (980 beteg), mint a korábbi tanulmányokban (73 beteg), másrészt a különbségeket a különböző etnikai eredet is magyarázhatja (25).

Más tanulmány a TBP gén kapcsolatát hangsúlyozta (63) a Huntington choreával, amely szintén egy polimorfikus CAG repeatet tartalmaz, azonban nem tudtuk bizonyítani ennek a hatását a betegség kialakulásának kezdetére. Habár kapcsolatot írtak le a BDNF gén és a HD betegség kialakulásának kezdete között (64), ezt mi nem tudtuk alátámasztani (55).

Vizsgáltuk a HIP1 és a ZDHHC17 gének kapcsolatát a huntingtin génnel, melyet már korábban leírtak (65, 66). A vizsgált polimorfizmusok közül egyik sem mutatott szignifikáns összefüggést a betegség megjelenésének kezdetével (55). Transzgenikus egerekkel végzett kísérletek környezeti faktorok hatását mutatták a betegség kialakulásának kezdetére (67).

### **6.3. Az S18Y polimorfizmus vizsgálata az UCHL1 génben**

Az S18Y polimorfizmus szignifikáns hatását mutattuk ki a betegség megjelenésére a HD-s betegeknek. Az SS és SY genotípusok protektív hatását találtuk az 50-nél nagyobb CAG ismétlődéseknél. A tünetek megjelenésének kezdete 28,8 (SD 8,2) és 29,3 (SD 9,9) év volt az SS illetve az SY genotípusok esetében, ezzel szemben 20,3 (SD 11,5) év volt az YY típusnál. A polimorfizmus az 50-nél hosszabb repeatszámoknál mutat effektív hatást a betegség megjelenésének kezdetére, az YY genotípussal rendelkezők első tüneteiket 8 évvel korábban mutatják, mint a más genotípusba tartozók (56).

### **6.4. Spinocerebelláris heredoataxiás betegek vizsgálata ICARS skálával**

Habár az ICARS skála teljesíti a validitás és megismerhetőség kritériumait, tanulmányunk számos problémát vetett fel az alsókálák szerkezetével és a skála egészének praktikusságával szemben (60). Egy korábbi tanulmány, az ICARS skála előnyeit vizsgálta kisebb betegszámon. Az analízis során a vizsgálok közötti megismételhetőség felméréséhez videó felvételeket használtak (68). Ezzel

összevetve a mi analízisünk sokkal összetettebb volt, vizsgálva egyéb tényezőket is, amelyek a mindennapi életbeni funkcionalitást mérik (Barthel-index) (69). Megjegyzendő, hogy anyagunkban inkább a betegség enyhébb tüneteit mutató betegek szerepeltek, továbbá a több személy által ugyanazon a páciensen elvégzett vizsgálat csak kisebb betegszámon volt megvalósítható. Ideális esetben egy vizsgáló skála rövid, könnyen használható és nem ad lehetőséget jelentős tévedésre. Az ICARS skálában talált több átfedés az egyes alskálákon belül és között is, megelőlegezi a tévedés lehetőségét, bár ezt gyakorlással lehet csökkenteni, ugyanúgy, mint az elvégzéséhez szükséges időt. Ideális esetben az ICARS értéket 4 faktor határozza meg, amelyek a 4 alskálához tartoznak. Az általunk végzett analízis azonban azt mutatta, hogy a vizsgálati eredményeket 4 különböző faktor határozta meg, amelyek nem estek egybe az ICARS alskálákkal, ami egészében az egész skála validitását kérdőjelezi meg (60).

### **6.5. Új ataxia beosztás, a SARA vizsgálata spinocerebelláris heredoataxiás betegeken**

A SARA, amely egy új ataxia skála, 8 különböző pontot tartalmaz, melyek a cerebelláris ataxiához köthető tünetek megjelenését vizsgálják. Az egyes pontok a standard neurológiai vizsgálat lépéseit követik (53). A szemmozgás-zavarok vizsgálata ki lett véve ebből a skálából, mivel az első validációs próbák azt mutatták, hogy az más, az ataxiától eltérő szerkezethez tartozik. A vizsgálatunkban résztvevő betegeink száma sokkal nagyobb volt, mint a korábbi hasonló vizsgálatban résztvevő betegeké. A kontrollok hozzávetőlegesen 20%-a egy vagy több pontban pozitív eredményt adott, ezek általában a nem domináns oldal mozgásteljesítményében jelentkeztek. Ezeknek a pontoknak a kizárása megnövelné a SARA megkülönböztető hatását, de lecsökkentené a szenzitivitását. Összevetve korábbi vizsgálati eredményeinkkel (ICARS), a SARA könnyen használható, és rövid idő alatt (kevesebb, mint 15 perc) elvégezhető vizsgálati módszernek



bizonyult. Legfontosabb, hogy a SARA értékeket egy faktor határozza meg, ami arra utal, hogy SARA a cerebelláris ataxia mérésére szolgál. Az egyes genotípusok szeparált analízise azt mutatta, hogy a korreláció a betegség kezdete és a SARA érték között jobb volt, hogyha csak az SCA1-es és SCA3-as betegek között vizsgáltuk, míg ez nem volt elmondható az SCA2-es és SCA6-os betegeknél (53).

#### **6.6. Nem ataxiás tünetek és a betegség súlyossága közötti összefüggés vizsgálata**

A betegség kialakulásának időpontja más, korábbi tanulmányokkal azonos értékeket mutatott. Ezen vizsgálat célja volt, hogy olyan tényezőket azonosítson, melyek meghatározzák a betegség súlyosságát az egyes SCA típusokban. Ehhez a korábban kifejlesztett SARA skálát is használtuk, aminek alkalmasságát már nagy beteganyagban vizsgálták (53). A betegség időtartama a SARA érték fontos meghatározójának bizonyult valamennyi SCA típus esetében. A regressziós analízis azt mutatta, hogy a betegség progressziója SCA1 esetében a leggyorsabb, valamivel lassabb az SCA2, SCA3 és SCA6 esetében. Az SCA6 esetében, a betegség kialakulásának időpontja volt az egyetlen faktor, ami szerepet játszott a SARA értékben. A többi típus esetében legfontosabb szerepe az expandált allél hosszúságának volt. Korábbi tanulmányok ennek csupán a kialakulás időpontjával és a betegség progressziójával való összefüggését vizsgálták (54). A nem ataxiás tünetek előfordulása, megoszlása illetve eloszlása több, korábbi tanulmánnyal azonos értéket mutat (70, 71). Azonban a vizsgálat által talált értékek egy kis magyarázatra szorulnak. Elsőként, a vizsgálat a tünetek megléte mellett nem vette figyelembe azok súlyosságát, a fenotípusbeli különbségek így könnyen alábecsülhetőek az egyes genotípusok között. Például a szemmozgás-zavarok közel egyformán voltak jelen az SCA1, SCA2, SCA3 típusokban, holott ismert, hogy SCA2 esetében általában sokkal súlyosabbak. (72). Ugyanígy - enyhe fokú szemtünetek - pl. oldalra tekintéskor jelentkező kettős látás - az agytörzsi tünetek

túlbecsléséhez vezethetnek az SCA6 esetében. Adataink azt mutatják, hogy az SCA6 nem tisztán cerebelláris tünetekkel járó SCA típus. Átlagosan mindegyik SCA6-os betegnek 2-nél több, nem ataxiás tünete volt. Az egyes típusokra specifikus eltéréseket már korábban leírtak: így a szemmozgás-zavarok SCA2 -ben (72), vagy a perifériás idegkárosodás életkorhoz kötöttsége SCA3 esetében (71).

Az SCA1, SCA2 és SCA3 esetében a SARA érték és a betegség időtartama voltak a legfontosabb faktorok az INAS érték alakulásában, míg SCA6 esetében csupán a betegség időtartama. AZ INAS érték, miután a SARA skálától eltérő aspektusait vizsgálja a betegségnek, használható lesz a jövőben végzendő klinikai tesztekben. Az SCA6 esetében talált eltérés felveti a kérdést, hogy a nem ataxiás tünetek közül melyik tudható be a betegségnek, vagy az öregedés következményének. Eredményeink szerint az SCA1, SCA2, SCA3 típusok ugyanazokat a biológiai sajátosságokat hordozzák, míg az SCA6 nem csupán a későbbi kezdet és kevesebb nem ataxiás tünet okán tér el tőlük, de abban is, hogy fenotípusát az életkor s nem a betegséghez köthető tényezők határozzák meg (61).

## **6.7. SCAFI – új funkcionális index a teljesítmény mérésére ataxiás betegekben**

A teljesítményre alapozott mérések bizonyos előnyökkel rendelkeznek a különböző klinikai értékelő skálákkal szemben. Mérhető adatokat tartalmaznak, nagy az érzékenységük, és nagy a megbízhatóságuk.

Korábban más neurológiai betegségek pl. a sclerosis multiplex (73) illetve a Friedreich-ataxia (74) esetében is sor került a betegség természetéhez igazodó vizsgálati skálák kialakítására. Adataink szerint, az általunk kidolgozott paraméter (SCAFI) szorosabb korrelációt mutat a betegség progressziójával, mint az egyes vizsgálati módszerek önmagukban. Az index lineáris csökkenést mutat a betegség súlyosságának fokozódásával, így egy sokat ígérő eszköznek tűnik az SCA-kban bekövetkező funkcionális hanyatlás követésére (62).

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS-ÚJ EREDMÉNYEK

1. Megállapíthatjuk, hogy a Huntington choreás betegek tíz százaléka lett öngyilkos, a férfiak között nagyobb arányban fordult elő a jelenség. Az öngyilkosság módszerei jelentősen eltérnek a normál populációban szokásostól.

2. Az általunk vizsgált GRIK2, TBP, HIP1, ZDHHC17 gének esetében nem sikerült korrelációt kimutatni a Huntington betegség kialakulásának kezdete és a génekben korábban leírt variánsok előfordulása között. Ezzel szemben az S18Y polimorfizmus szignifikáns hatását mutattuk ki a betegség kialakulásának kezdetére az 50-nél magasabb CAG ismétlődést hordozó Huntington choreás betegeknél.

3. Az ICARS skála használata során annak validitása kérdőjeleződött meg, felvetve egy új klinikai vizsgálati módszer kidolgozásának szükségességét.

4. Az általunk kidolgozott SARA skála könnyen használható, a cerebelláris tünetek vizsgálatára kiválóan megfelelő módszernek bizonyult.

5. A nem ataxiás tünetek és a betegség súlyossága közötti összefüggés vizsgálata alapján azt mondhatjuk, hogy a betegség progressziója az SCA1 típus esetében a leggyorsabb. A SARA érték alakulásában SCA6 esetében a betegség kialakulása kezdetének, míg a többi vizsgált típus esetében az expandált allél hosszúságának volt szerepe. Az SCA1, SCA2 és SCA3 esetében a SARA érték és a betegség időtartama voltak a legfontosabb faktorok az INAS érték alakulásában, míg SCA6 esetében csupán a betegség időtartama. Az INAS érték, miután a SARA skálától eltérő aspektusait vizsgálja a betegségnek, használható lesz a jövőben elvégzendő klinikai vizsgálatokban.

6. Az általunk kidolgozott, a teljesítmény mérésére szolgáló új funkcionális index (SCAFI) szorosabb korrelációt mutat a betegség progressziójával, mint az egyes vizsgálati módszerek önmagukban.

## 8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. **Baliko L**, Csala B, Czopf J. Suicide in Hungarian Huntington's disease patients. *Neuroepidemiology* 2004;23(5):258-260. IF: 1,758
2. Metzger S, Bauer P, Tomiuk J, Laccone F, Didonato S, Gellera C, Soliveri P, Lange HW, Weirich-Schwaiger H, Wenning GK, Melegh B, Havasi V, **Baliko L**, Wieczorek S, Arning L, Zaremba J, Sulek A, Hoffman-Zacharska D, Basak AN, Ersoy N, Zidovska J, Kebrdlova V, Pandolfo M, Ribai P, Kadasi L, Kvasnicova M, Weber BH, Kreuz F, Dose M, Stuhmann M, Riess O. The S18Y polymorphism in the UCHL1 gene is a genetic modifier in Huntington's disease. *Neurogenetics* 2006;7(1):27-30. IF: 4,250
3. Schmitz-Hubsch T, Tezenas du Montcel S, **Baliko L**, Boesch S, Bonato S, Fancellu R, Giunti P, Globas C, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Rakowicz M, Rola R, Romano S, Schols L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Zdzienicka E, Durr A, Klockgether T. Reliability and validity of the International Cooperative Ataxia Rating Scale: a study in 156 spinocerebellar ataxia patients. *Mov Disord* 2006;21(5):699-704. IF: 3,323
4. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, **Baliko L**, Berciano J, Boesch S, Depondt C, Giunti P, Globas C, Infante J, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Pandolfo M, Rakowicz M, Ribai P, Rola R, Schols L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Durr A, Klockgether T, Fancellu R. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66(11):1717-20. Erratum in: *Neurology*. 2006;67(2):299. IF: 5.690
5. Metzger S, Bauer P, Tomiuk J, Laccone F, Didonato S, Gellera C, Mariotti C, Lange HW, Weirich-Schwaiger H, Wenning GK, Seppi K, Melegh B, Havasi V, **Baliko L**, Wieczorek S, Zaremba J, Hoffman-Zacharska D, Sulek A, Basak AN, Soydan E, Zidovska J, Kebrdlova V, Pandolfo M, Ribai P, Kadasi L, Kvasnicova

M, Weber BH, Kreuz F, Dose M, Stuhmann M, Riess O. Genetic analysis of candidate genes modifying the age-at-onset in Huntington's disease. *Hum Genet* 2006;120(2):285-292. IF: 3,662

6. Schmitz-Hübsch T, Giunti P, Stephenson DA, Globas C, ***Baliko L***, Saccá F, Mariotti C, Rakowicz M, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Timmann D, Fancellu R, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdzienicka E, Kang JS, Döhlinger S, Kremer B, Melegh B, Filla A, Klockgether T. SCA Functional Index – a useful compound performance measure for spinocerebellar ataxia. *Neurology* 2008;71(7):486-492. IF: 6,014

7. Schmitz-Hübsch T, Coudert M, Bauer P, Giunti P, Globas C, ***Baliko L***, Filla A, Mariotti C, Rakowicz M, Charles P, Ribai P, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Dürr A, Timmann D, Boesch S, Fancellu R, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdzienicka E, Kang JS, Döhlinger S, Kremer B, Stephenson DA, Melegh B, Pandolfo M, di Donato S, du Montcel ST, Klockgether T. Spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3 and 6: Disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology* 2008;71(13):982-989. IF: 6,014

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 30,711

## 9. IDÉZETT IRODALOM

1. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Reiner O, Richards S, Victoria MF, Zhang FP, Eussen BE, van Ommen GJ, Blonden LA, Riggins GJ, Chastain JL, Kunst CB, Galjaard H, Caskey CT, Nelson DL, Oostra BA, Warren ST. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpointcluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991;65(5):905-914.
2. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fishbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991;352(6330):77-79.
3. Koide R, Ikeuchi T, Onodera O, Tanaka H, Igarashi S, Endo K, Takahashi H, Kondo R, Ishikawa A, Hayasi T, Saito M, Tomoda A, Miike T, Naito H, Ikuta F, Tsuji S. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). *Nat Genet* 1994;6(1):9-13.
4. Campuzano V, Montermini L, Molto MD, Pianese L, Cossee M, Cavalcanti F, Monros E, Rodius F, Duclos F, Amonticelli, Zara F, Canizares J, Koutnikova H, Bidichandani SI, Gellera C, Brice A, Trouillas P, De Michele G, Filla A, De Frutos R, Palau F, Patel PI, DiDonato S, Mandel JL, Coccozza S, Koenig M, Pandolfo M. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996;271(5254):1423-1427.
5. Huntington's Disease Collaborative Research Group: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell*

1993;72(6):971-983.

6. Orr HT, Chung MY, Banfi S, Kwiatkowski TJ, Jr Servadio A, Beaudet AL, McCall AE, Duvick LA, Ranum LP, Zoghbi HY. Expansion of a unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993;4(3):221-226.

7. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM, Weber C, Mandel JL, Cancel G, Abbas N, Durr A, Didierjan O, Stevanin G, Agid Y, Brice A. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nat Genet* 1996;14(3):285-291.

8. Zchuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton DW, Amos C, Dobyns WB, Subramony SH, Zoghbi HY, Lee CC. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997;15(1):62-69.

9. David G, Abbas N, Stevanin G, Durr A, Yvert G, Cancel G, Weber C, Imbert G, Saudou F, Antoniou E, Drabkin H, Gemmill R, Giunti P, Benomar A, Wood N, Ruberg M, Agid Y, Mandel JL, Brice A. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 1997;17(1):65-70.

10. Haigh B, Huq M, Hayden MR. Huntington's disease (In: Gene reviews online)

11. Huntington's disease. 3rd edition. Oxford university press 2002. L.159-198.

12. Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, Starr E, Squitieri F, Lin B, Kalchman MA. The relationship between trinucleotide (CAG)

repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet* 1993;4(4):398-403.

13. Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985;44(6):559-577.

14. Gutekunst CA, Levey AI, Heilman CJ, Whaley WL, Yi H, Nash NR, Rees HD, Madden JJ, Hersch SM. Identification and localization of huntingtin in brain and human lymphoblastoid cell lines with anti-huntingtin protein antibodies. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92(19):8710-8714.

15. Scherzinger E, Lurz R, Turmaine M, Mangiarini L, Hollenbach B, Hasenbank R, Bates GP, Davies SW, Lehrach H, Wanker EE. Huntingtin encoded polyglutamine expansions form amyloid-like protein aggregates in vitro and in vivo. *Cell* 1997;90(3):549-558.

16. Schoenfeld M, Myers RH, Cupples LA, Berkman B, Sax DS, Clark E. Increased rate of suicide among patients with Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47(12):1283-1287.

17. Farrer LA. Suicide and attempted suicide in Huntington's disease: Implications for preclinical testing of persons at risk. *Am J Med Genet* 1986;24(2):305-311.

18. Di Maio L, Squitieri F, Napolitano G, Campanella G, Trofatter JA, Conerally PM. Suicide risk in Huntington's disease. *J Med Genet* 1993;30(4):293-295.



19. Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, Starr E, Squitieri F, Lin B, Kalchman MA, Graham RK, Hayden MR. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet* 1993;4(4):398-403.

20. Brinkman RR, Mezei MM, Theilmann J, Almqvist E, Hayden MR. The likelihood of being affected with Huntington's disease by a particular age, for a specific CAG size. *Am J Hum Genet* 1997;60(5):1202-1210.

21. Stine OC, Pleasant N, Franz ML, Abbott MH, Folstein SE, Ross CA. Correlation between the onset age of Huntington's disease and length of the trinucleotide repeat in IT-15. *Hum Mol Genet* 1993;2(10):1547-1549.

22. The US-Venezuela Collaborative Research Project, Wexler NS. Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101(10):3498-3503.

23. Li JL, Hayden MR, Almqvist EW, Brinkmann RR, Durr A, Dodé C, Morrison PJ, Suchowersky O, Ross CA, Margolis RL, Rosenblatt A, Gomez-Tortosa E, Cabrero DM, Novelletto A, Frontali M, Nance M, Trent RJ, McCusker E, Jones R, Paulsen JS, Harrison M, Zanko A, Abramson RK, Russ AL, Knowlton B, Djoussé L, Mysore JS, Tariot S, Gusella MF, Wheeler VC, Atwood LD, Cupples LA, Saint-Hilare M, Cha JH, Hersch SM, Koroschetz WJ, Gusella JF, McDonald ME, Myers RH. A genome scan for modifiers of age at onset in Huntington's disease: the HD MAPS study. *Am J Hum Genet* 2003;73(3):682-687.

24. Rosenblatt A, Brinkmann RR, Liang KY, Almqvist EW, Margolis RL, Huang CY, Sherr M, Franz ML, Abbott MH, Hayden MR, Ross CA. Familial influence on

age of onset among siblings with Huntington's disease. *Am J Med Genet* 2001;105(5):399-403.

25. Chattopadhyay B, Ghosh S, Gangopadhyay PK, Das SK, Roy T, Sinha KK, Jha DK, Mukherjee SC, Chakraborty A, Singhal BS, Bhattacharya AK, Bhattacharyya NP. Modulation of age-at-onset in Huntington's disease and spinocerebellar ataxia type 2 patients originated from eastern India. *Neurosci Lett* 2003;345(2):93-96.

26. MacDonald ME, Vonsattel JP, Shrividhi J, Couropmitree NN, Cupples LA, Bird ED, Gusella JF, Myers RH. Evidence for the GluR6 gene associated with younger onset age of Huntington's disease. *Neurology* 1999;53(6):1330-1332.

27. Rubinsztein DC, Leggo J, Chiano M, Dodge A, Norbury G, Rosser E, Craufurd D. Genotypes at the GluR6 kinate receptor locus are associated with variation in the age of onset of Huntington' disease. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94(8):3872-3876.

28. Kehoe P, Krawczak M, Harper PS, Owen MJ, Jones AL. Age of onset in Huntington's disease: sex specific influence of apolipoprotein E genotype and normal CAG repeat length. *J Med Genet* 1999;36(2):108-111.

29. Arning L, Kraus PH, Valentin S, Saft C, Andrich J, Epplen JT. NR2A and NR2B receptor gene variations modify age at onset in Huntington's disease. *Neurogenetics* 2005;6(1):25-28.

30. Taroni F, DiDonato S. Pathways to motor incoordination: The inherited ataxias. *Nat Rev Neuro* 2004;5(8):641-655.

31. van de Warrenburg BP, Frenken CW, Ausems MG, Kleefstra T, Sinke RJ, Knoers NV, Kremer HP. Spinocerebellar ataxias in the Netherlands – Prevalence and age at onset variance analysis. *Neurology* 2002;58(5):702-708.
32. Schols L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004;3(5):291-304.
33. Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, Gorelick-Feldman DA, Kleiderlein JJ, Callahan C, Kwak NG, Ingersoll-Ashworth RG, Sherr M, Sumner AJ, Sharp AH, Ananth U, Seltzer WK, Boss MA, Vieria-Saecker AM, Epplen JT, Riess O, Ross CA, Margolis RL. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5' region of PPP2R2B is associated with SCA12. *Nat Genet* 1999;23(4):391-392.
34. Holmes SE, O'Hearn EE, Margolis RL. Why is SCA12 different from other SCAs? *Cyt Gen Res* 2003;100(1-4):189-197.
35. Schöls L, Bauer I, Zühlke C, Schulte T, Kölmel C, Bürk K, Topka H, Bauer P, Przuntek H, Riess O. Do CTG expansions at the SCA8 locus cause ataxia? *Ann Neurol* 2003;54(1):110-115.
36. van Swieten JC, Brusse E, de Graaf BM, Krieger E, van de Graaf R, de Koning I, Maat-Kievit A, Leegwater P, Dooijes D, Oostra BA, Heutink P. A mutation in the fibroblast growth factor 14 gene is associated with autosomal dominant cerebral ataxia. *Am J Hum Genet* 2003;72(1):191-199.
37. Chen DH, Brkanac Z, Verlinde CL, Tan XJ, Bylenok L, Nochlin D, Matsushita M, Lipe H, Wolff J, Fernandez M, Cimino PJ, Bird TD, Raskind WH. Missense

mutations in the regulatory domain of PKC gamma: A new mechanism for dominant nonepisodic cerebellar ataxia. *Am J Hum Genet* 2003;72(4):839-849.

38. Rolfs A, Koeppen AH, Bauer I, Bauer P, Buhlmann S, Topka H, Schöls L, Riess O. Clinical features and neuropathology of autosomal dominant spinocerebellar ataxia (SCA17). *Ann Neurol* 2003;54(3):367-375.

39. Maltecca F, Filla A, Castaldo I, Coppola G, Fragassi NA, Carella M, Bruni A, Cocozza S, Casari G, Servadio A, De Michele G. Intergenerational instability and marked anticipation in SCA-17. *Neurology* 2003;61(10):1441-1443.

40. Schöls L, Szymanski S, Peters S, Przuntek H, Epplen JT, Hardt C, Riess O. Genetic background of apparently idiopathic sporadic cerebellar ataxia. *Hum Genet* 2000;107(2):132-137.

41. Zoghbi HY, Orr HT. Glutamine repeats and neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:217-247.

42. Sathasivam K, Hobbs C, Turmaine M, Mangiarini L, Mahal A, Bertaux F, Wanker EE, Doherty P, Davies SW, Bates GP. Formation of polyglutamine inclusions in non-CNS tissue. *Hum Mol Genet* 1999;8(5):813-822.

43. Nakamura K, Jeong SY, Uchihara T, Anno M, Nagashima K, Nagashima T, Ikeda S, Tsuji S, Kanazawa I. SCA17, a novel autosomal dominant cerebellar ataxia caused by an expanded polyglutamine in TATA-binding protein. *Hum Mol Genet* 2001;10(14):1441-1448.

44. Koyano S, Uchihara T, Fujigasaki H, Nakamura A, Yagishita S, Iwabuchi K. Neuronal intranuclear inclusions in spinocerebellar ataxia type 2. *Ann Neurol* 2000;47(4):550.
45. Holmberg M, Duyckaerts C, Dürr A, Cancel G, Gourfinkel-An I, Damier P, Faucheux B, Trottier Y, Hirsch EC, Agid Y, Brice A. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7): a neurodegenerative disorder with neuronal intranuclear inclusions. *Hum Mol Genet* 1998;7(5):913-918.
46. Klement IA, Skinner PJ, Kaytor MD, Yi H, Hersch SM, Clark HB, Zoghbi HY, Orr HT. Ataxin-1 nuclear localization and aggregation: Role in polyglutamine-induced disease in SCA1 transgenic mice. *Cell* 1998;95(1):41-53.
47. Schmidt T, Landwehrmeyer GB, Schmitt I, Trottier Y, Auburger G, Laccone F, Klockgether T, Völpel M, Epplen JT, Schöls L, Riess O. An isoform of ataxin-3 accumulates in the nucleus of neuronal cells in affected brain regions of SCA3 patients. *Brain Pathol* 1998;8(4):669-679.
48. Trottier Y, Lutz Y, Stevanin G, Imbert G, Devys D, Cancel G, Saudou F, Weber C, David G, Tora L. Polyglutamine expansion as a pathological epitope in huntington's disease and four dominant cerebellar ataxias. *Nature* 1995;378(6555):403-406.
49. Schmidt T, Lindenberg KS, Krebs A, Schöls L, Laccone F, Herms J, Rechsteiner M, Riess O, Landwehrmeyer GB. Protein surveillance machinery in brains with spinocerebellar ataxia type 3: Redistribution and differential recruitment of 26S proteasome subunits and chaperones to neuronal intranuclear inclusions. *Ann Neurol* 2002;51(3):302-310.

50. Chai Y, Koppenhafer SL, Shoesmith SJ, Perez MK, Paulson HL. Evidence for proteasome involvement in polyglutamine disease: localization to nuclear inclusions in SCA3/MJD and suppression of polyglutamine aggregation in vitro. *Hum Mol Genet* 1999;8(4):673-682.

51. Cummings CJ, Reinstein E, Sun Y, Antalffy B, Jiang Y, Ciechanover A, Orr HT, Beaudet AL, Zoghbi HY. Mutation of the E6-AP ubiquitin ligase reduces nuclear inclusion frequency while accelerating polyglutamine-induced pathology in SCA1 transgenic mice. *Neuron* 1999;24(4):879-892.

52. Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, Currier RD, Subramony SH, Wessel K, Bryer A, Diener HC, Massaquio S, Gomes CM, Coutinhon P, Ben Hamida M, Campanella G, Filla A, Schut L, Timann D, Honnorat J, Nighoghossian N, Manyam B. International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *Neurol Sci* 1997;145(2):205-211.

53. Schmitz-Hubsch T, du Montcel ST, Balikó L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, Giunti P, Globas C, Infante J, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Pandolfo M, Rakowicz M, Ribai P, Rola R, Schols L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Durr A, Klockgether T, Fancellu R. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;66(11):1717-1720.

54. Klockgether T, Lüdtke R, Kramer B, Abele M, Bürk K, Schöls L, Riess O, Laccone F, Boesch S, Lopes-Cendes I, Brice A, Inzelberg R, Zilber N, Dichgans J. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients.

*Brain* 1998,121(Pt4):589-600.

55. Metzger S, Bauer P, Tomiuk J, Laccone F, Didonato S, Gellera C, Mariotti C, Lange HW, Weirich-Schwaiger H, Wenning GK, Seppi K, Melegh B, Havasi V, Balikó L, Wiczorek S, Zaremba J, Hoffman-Zacharska D, Sulek A, Basak AN, Soydan E, Zidovska J, Kebrdlova V, Pandolfo M, Ribai P, Kadasi L, Kvasnicova M, Weber BH, Kreuz F, Dose M, Stuhmann M, Riess O. Genetic analysis of candidate genes modifying the age-at-onset in Huntington's disease. *Hum Genet* 2006;120(2):285-292.

56. Metzger S, Bauer P, Tomiuk J, Laccone F, Didonato S, Gellera C, Soliveri P, Lange HW, Weirich-Schwaiger H, Wenning GK, Melegh B, Havasi V, Balikó L, Wiczorek S, Arning L, Zaremba J, Sulek A, Hoffman-Zacharska D, Basak AN, Ersoy N, Zidovska J, Kebrdlova V, Pandolfo M, Ribai P, Kadasi L, Kvasnicova M, Weber BH, Kreuz F, Dose M, Stuhmann M, Riess O. The S18Y polymorphism in the UCHL1 gene is a genetic modifier in Huntington's disease. *Neurogenetics* 2006;7(1):27-30.

57. Balikó L, Csala B, Czopf J. Suicide in Hungarian Huntington's disease patients. *Neuroepidemiology* 2004;23(5):258-260.

58. Ozsváth K. Epidemiology of suicide events in a Hungarian county, in Moeller H, Schmidtke A, Welz R, (eds): Current Issues of Suicide. Springer, Berlin, 1980, pp 75-80.

59. Nazé P, Vuillaume I, Detée A, Pasquier F, Sablonniere B. Mutation analysis and associated studies on the ubiquitin carboxy-terminal hydroxylase L1 gene in Huntington's disease. *Neurosci Lett* 2002;328(1):1-4.

60. Schmitz-Hubsch T, Tezenas du Montcel S, Balikó L, Boesch S, Bonato S, Fancellu R, Giunti P, Globas C, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Rakowicz M, Rola R, Romano S, Schols L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Zdzienicka E, Durr A, Klockgether T. Reliability and validity of the International Cooperative Ataxia Rating Scale: a study in 156 spinocerebellar ataxia patients. *Mov Disord* 2006;21(5):699-704.

61. Schmitz-Hübsch T, Coudert M, Bauer P, Giunti P, Globas C, Baliko L, Filla A, Mariotti C, Rakowicz M, Charles P, Ribai P, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Dürr A, Timmann D, Boesch S, Fancellu R, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdienicka E, Kang JS, Döhlinger S, Kremer B, Stephenson DA, Melegh B, Pandolfo M, DiDonato S, du Montcel ST, Klockgether T. Spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3 and 6: Disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology* 2008;71(13):982-989.

62. Schmitz-Hübsch T, Giunti P, Stephenson DA, Globas C, Balikó L, Saccá F, Mariotti C, Rakowicz M, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Timmann D, Fancellu R, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdzienicka E, Kang JS, Döhlinger S, Kremer B, Melegh B, Filla A, Klockgether T. SCA Functional Index – a useful compound performance measure for spinocerebellar ataxia. *Neurology* 2008;71(7):486-492.

63. Djoussé L, Knowlton B, Hayden MR, Almqvist EW, Brinkman RR, Ross CA, Margolis RL, Rosenblatt A, Durr A, Dode C, Morrison PJ, Novelletto A, Frontali M, Trent RJ, McCusker E, Gómez-Tortosa E, Mayo Cabrero D, Jones R, Zanko A, Nance M, Abramson RK, Suchowersky O, Paulsen JS, Harrison MB, Yang Q, Cupples LA, Mysore J, Gusella JF, MacDonald ME, Myers RH. Evidence for a



modifier of onset age in Huntington's disease linked to the HD gene in 4p16. *Neurogenetics* 2004;5(2):109-114.

64. Alberch J, López M, Badens C, Carrasco JL, Milá M, Munoz E, Canals JM. Association between BDNF Val66Met polymorphism and age at onset in Huntington disease. *Neurology* 2005;65(6):964-965.

65. Singaraja RR, Hadano S, Metzler M, Givan S, Wellington CL, Warby S, Yanai A, Gutekunst CA, Leavitt BR, Yi H, Fitcher K, Gan L, McCutcheon K, Chopra V, Michael J, Hercsh SM, Ikeda JE, Hayden MR. HIP14, a novel ankyrin domain-containing protein, links huntingtin to intracellular trafficking and endocytosis. *Hum Mol Genet* 2002;11(23):2815-2828.

66. Wanker EE, Rovira C, Sherzinger E, Hasenbank R, Walter S, Tait D, Colicelli J, Lehrach H. HIP-I: a huntingtin interacting protein isolated by the yeast two-hybrid system. *Hum Mol Genet* 1997;6(3):487-495.

67. Tanaka M, Machida Y, Niu S, Ikeda T, Jana NR, Doi H, Kurosawa M, Nekooki M, Nukina N. Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington's disease. *Nat Med* 2004;10(2):148-154.

68. Storey E, Tuck K, Hester R, Hughes A, Churchyard A. Inter-rater reliability of the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS). *Mov Disord* 2004;19(2):190-192.

69. Mahoney FI, Barthel DW. Functional evaluation: the Bartel index. *Md State Med J* 1965;14:61-65.

70. Dubourg O, Dürr A, Cancel G, Stevanin G, Chneiweiss H, Penet C, Agid Y, Brice A. Analysis of the SCA1 CAG repeat in a large number of families with dominant ataxia: clinical and molecular correlations. *Ann Neurol* 1995;37(2):176-180.
71. van de Warrenburg BP, Hedriks H, Dürr A, van Zuijlen MC, Stevanin G, Camuzat A, Sinke RJ, Brice A, Kremer BP. Age at onset variance analysis in spinocerebellar ataxias: a study in a Dutch-Frenc cohort. *Ann Neurol* 2005;57(4):505-512.
72. Velázquez-Pérez L, Seifried C, Santos-Falcón N, Abele M, Ziemann U, Almaguer LE, Martinez-Góngora E, Sánchez-Cruz G, Canales N, Pérez-González R, Velázquez-Manreas M, Viebahn B, von Stuckrad-Barre S, Fetter M, Klockgether T, Auburger G. Saccade velocity is controlled by polyglutamine size in spinocerebellar ataxia 2. *Ann Neurol* 2004;56(3):444-447.
73. Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, Cookfair DL, Fischer JS, Petkau J, Syndulko K, Weinshenker BG, Antel JP, Confavreux C, Ellison GW, Lublin F, Miller AE, Rao SM, Reingold S, Thompson A, Willoughby E. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 1999;122(Pt5):871-882.
74. Lynch DR, Farmer JM, Tsou AY, Perlman S, Subramony SH, Gomez CM, Asizawa T, Wilmot GR, Wilson RB, Balcer LJ. Measuring Friedreich ataxia: complementary features of examination and performance measures. *Neurology* 2006;66(11):1711-1716.

## **10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla professzor úrnak, aki lehetővé tette, hogy részt vegyek ebben a kutatásban, szakmai tevékenységemet mindvégig figyelemmel kísérte, kutató munkámat irányította és segítette. Hasznos útmutatásai, meglátásai tették lehetővé közleményeim megjelenését és számos kongresszuson való részvételemet.

Köszönettel tartozom hazai és külföldi együttműködő partnereinknek, külön köszönetemet szeretném kifejezni Olaf Riess és Thomas Klockgether professzor uraknak, hogy részvételemet az EUROSCA hálózatban támogatták, támogatólag járultak hozzá az ott keletkezett adatok értekezésemben történő fölhasználásához. Köszönet illeti a vizsgálatokban közreműködő szakszemélyzet, a betegek és a hozzátartozóik támogató hozzáállását.

Köszönöm családtagjaimnak megértő türelmüket, szeretetüket és bátorításukat. Különösen köszönöm feleségemnek, Koronczai Csillának azt a támogatást, amit munkám során mindvégig megkaptam.

## 11. FÜGGELÉK

### Scale for the assessment and rating of ataxia (SARA) – 5<sup>th</sup> version

1) Gait	2) Stance
<p>Proband is asked (1) to walk at a safe distance parallel to a wall including a half-turn (turn around to face the opposite direction of gait) and (2) to walk in tandem (heels to toes) without support.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>0 Normal, no difficulties in walking, turning and walking tandem (up to one misstep allowed)</li> <li>1 Slight difficulties, only visible when walking 10 consecutive steps in tandem</li> <li>2 Clearly abnormal, tandem walking &gt;10 steps not possible</li> <li>3 Considerable staggering, difficulties in half-turn, but without support</li> <li>4 Marked staggering, intermittent support of the wall required</li> <li>5 Severe staggering, permanent support of one stick or light support by one arm required</li> <li>6 Walking &gt; 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person)</li> <li>7 Walking &lt; 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person)</li> <li>8 Unable to walk, even supported</li> </ul>	<p>Proband is asked to stand (1) in natural position, (2) with feet together in parallel (big toes touching each other) and (3) in tandem (both feet on one line, no space between heel and toe). Proband does not wear shoes, eyes are open. For each condition, three trials are allowed. Best trial is rated.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>0 Normal, able to stand in tandem for &gt; 10 s</li> <li>1 Able to stand with feet together without sway, but not in tandem for &gt; 10s</li> <li>2 Able to stand with feet together for &gt; 10 s, but only with sway</li> <li>3 Able to stand for &gt; 10 s without support in natural position, but not with feet together</li> <li>4 Able to stand for &gt;10 s in natural position only with intermittent support</li> <li>5 Able to stand &gt;10 s in natural position only with constant support of one arm</li> <li>6 Unable to stand for &gt;10 s even with constant support of one arm</li> </ul>
<p><b>Score</b></p>	<p><b>Score</b></p>

<p><b>3) Sitting</b></p> <p>Proband is asked to sit on an examination bed without support of feet, eyes open and arms outstretched to the front.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>0 Normal, no difficulties sitting &gt;10 sec</b></li> <li><b>1 Slight difficulties, intermittent sway</b></li> <li><b>2 Constant sway, but able to sit &gt; 10 s without support</b></li> <li><b>3 Able to sit for &gt; 10 s only with intermittent support</b></li> <li><b>4 Unable to sit for &gt;10 s without continuous support</b></li> </ul>	<p><b>4) Speech disturbance</b></p> <p>Speech is assessed during normal conversation.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>0 Normal</b></li> <li><b>1 Suggestion of speech disturbance</b></li> <li><b>2 Impaired speech, but easy to understand</b></li> <li><b>3 Occasional words difficult to understand</b></li> <li><b>4 Many words difficult to understand</b></li> <li><b>5 Only single words understandable</b></li> <li><b>6 Speech unintelligible / anarthria</b></li> </ul>		
<p><b>Score</b></p>		<p><b>Score</b></p>	

<b>5) Finger chase</b> <b>Rated separately for each side</b> Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Examiner sits in front of proband and performs 5 consecutive sudden and fast pointing movements in unpredictable directions in a frontal plane, at about 50 % of proband's reach. Movements have an amplitude of 30 cm and a frequency of 1 movement every 2 s. Proband is asked to follow the movements with his index finger, as fast and precisely as possible. Average performance of last 3 movements is rated.			<b>6) Nose-finger test</b> <b>Rated separately for each side</b> Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to point repeatedly with his index finger from his nose to examiner's finger which is in front of the proband at about 90 % of proband's reach. Movements are performed at moderate speed. Average performance of movements is rated according to the amplitude of the kinetic tremor.		
<b>0 No dysmetria</b> <b>1 Dysmetria, under/ overshooting target &lt;5 cm</b> <b>2 Dysmetria, under/ overshooting target &lt; 15 cm</b> <b>3 Dysmetria, under/ overshooting target &gt; 15 cm</b> <b>4 Unable to perform 5 pointing movements</b>			<b>0 No tremor</b> <b>1 Tremor with an amplitude &lt; 2 cm</b> <b>2 Tremor with an amplitude &lt; 5 cm</b> <b>3 Tremor with an amplitude &gt; 5 cm</b> <b>4 Unable to perform 5 pointing movements</b>		
<b>Score</b>	<b>Right</b>	<b>Left</b>	<b>Score</b>	<b>Right</b>	<b>Left</b>
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L)/2		
<b>7) Fast alternating hand movements</b> <b>Rated separately for each side</b> Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to perform 10 cycles of repetitive alternation of pro- and supinations of the hand on his/her thigh as fast and as precise as possible. Movement is demonstrated by examiner at a speed of approx. 10 cycles within 7 s. Exact times for movement execution have to be taken.			<b>8) Heel-shin slide</b> <b>Rated separately for each side</b> Proband lies on examination bed, without sight of his legs. Proband is asked to lift one leg, point with the heel to the opposite knee, slide down along the shin to the ankle, and lay the leg back on the examination bed. The task is performed 3 times. Slide-down movements should be performed within 1 s. If proband slides down without contact to shin in all three trials, rate 4.		
<b>0 Normal, no irregularities (performs &lt;10s)</b> <b>1 Slightly irregular (performs &lt;10s)</b> <b>2 Clearly irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, but performs &lt;10s</b> <b>3 Very irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, performs &gt;10s</b> <b>4 Unable to complete 10 cycles</b>			<b>0 Normal</b> <b>1 Slightly abnormal, contact to shin maintained</b> <b>2 Clearly abnormal, goes off shin up to 3 times during 3 cycles</b> <b>3 Severely abnormal, goes off shin 4 or more times during 3 cycles</b> <b>4 Unable to perform the task</b>		
<b>Score</b>	<b>Right</b>	<b>Left</b>	<b>Score</b>	<b>Right</b>	<b>Left</b>
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L) / 2		

## Inventory of Non-Ataxia Symptoms (INAS) – 6<sup>th</sup> version

NA: not assessed/no information available Mod: moderate

### Part one: clinical findings

Plaease report the (undobtful) occurence of signs also if abnormal findings occur only on one side

<b>Reflexes</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>NA</b>		
1. Biceps (BTR)	normal	hyperreflexia	areflexia	NA		
2. Patellar (PTR)	normal	hyperreflexia	areflexia	NA		
3. Achilles (ATR)	normal	hyperreflexia	areflexia	NA		
4. Extensor plantar reflex	none	unilateral	bilateral	NA		
<b>Motor symptoms</b>		<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>NA</b>
<b>5. Spasticity</b>		None	Mild	Mod	Severe	Na
Gait						
Upper Limbs						
Lower Limbs						
<b>6. Paresis</b>		None	Mild	Mod	Severe	NA
Face/tongue						
UL proximal						
UL distal						
LL proximal						
LL distal						
<b>7. Muscle atrophy</b>		None	Mild	Mod	Severe	NA
Face/tongue						
UL proximal						
UL distal						
LL proximal						
LL distal						
<b>8. Fasciculations</b>		None	Mild	Mod	Severe	NA
Face/tongue						
Upper Limbs						
Lower Limbs						
<b>9. Myoclonus</b>		None	Mild	Mod	Severe	NA
Face/tongue						
Trunk						
Upper Limbs						
Lower Limbs						
<b>10. Rigidity</b>		None	Mild	Mod	Severe	NA
(should be obvious without movement of opposite limb)						
Axial						
Upper Limbs						
Lower Limbs						
<b>11. Chorea/Dyskinesia</b>		None	Mild	Mod	Severe	NA

Face/tongue  
 Neck  
 Trunk  
 Upper Limbs  
 Lower Limbs

<b>12. Dystonia</b>	None	Mild	Mod	Severe	NA
Face/tongue					
Neck					
Trunk					
Upper Limbs					
Lower Limbs					

<b>13. Resting tremor</b>	None	Mild	Mod	Severe	NA
---------------------------	------	------	-----	--------	----

<b>Sensory symptoms</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>NA</b>
-------------------------	----------	----------	----------	----------	-----------

<b>14. Impaired vibration sense</b> (tested at malleolus ext)	None (8/8)	Mild (>5/8)	Mod (2-5/8)	Severe (<2/8)	NA
--	---------------	----------------	----------------	------------------	----

Right foot  
 Left foot

Ophthalmological findings	0	1			NA
---------------------------	---	---	--	--	----

Testin of fixation and smooth pursuit	No	Yes			NA
---------------------------------------	----	-----	--	--	----

15. Broken up smooth pursuit  
 16. Square wave jerks on fixation  
 17. Downbeat-nystagmus on fixation  
 18. Gaze evoked-nystagmus on horizontal testing  
 19. Gaze evoked-nystagmus on vertical testing  
 20. Ophthalmoparesis on horizontal gaze  
 21. Ophthalmoparesis on vertical gaze

<b>Testing of fast saccades</b>	No	Yes			NA
---------------------------------	----	-----	--	--	----

22. Slowing of saccades  
 23. Hypometric saccades  
 24. Hypermetric saccades

<b>Testing of visual function</b>					
25. Impaired visual acuity (loss of visual acuity <0.6 for binocular sight in distance testing)	No	Yes			NA

<b>Part Two: reported abnormalities</b>
---

	0	1	2	3	NA
<b>26. Double vision</b>	None	Mild	Mod	Severe/constant	NA
<b>27. Dysphagia</b>	None	Mild	Mod	Severe/ tube feeding	NA



**28. Urinary dysfunction**            None    Mild    Mod    Severe/ catheter            NA

**29. Cognitive impairment**            None    Mild    Mod    Severe            NA  
(according to examiner)

**30. Other abnormal clinical findings or reported abnormalities**

## Unified Huntington's disease rating scale (part IV)

yes (=1)no (=0)

46.	Could subject engage in gainful employment in his/her accustomed work?	YES	<u>NO</u>
47.	Could subject engage in any kind of gainful employment?	YES	<u>NO</u>
48.	Could subject engage in any kind of volunteer or non gainful work?	YES	<u>NO</u>
49.	Could subject manage his/her finances (monthly) without any help?	YES	<u>NO</u>
50.	Could subject shop for groceries without help?	YES	<u>NO</u>

43.	Could subject handle money as a purchaser in a simple cash (store) transaction?	YES	<u>NO</u>
44.	Could subject supervise children without help?	YES	<u>NO</u>
45.	Could subject operate an automobile safely and independently?	YES	<u>NO</u>
51.	Could subject do his/her own housework without help?	YES	<u>NO</u>
52.	Could subject do his/her own laundry (wash/dry) without help?	YES	<u>NO</u>

53.	Could subject prepare his/her own meals without help?	<u>YES</u>	NO
54.	Could subject use the telephone without help?	YES	<u>NO</u>
55.	Could subject take his/her own medications without help?	YES	<u>NO</u>
56.	Could subject feed himself/herself without help?	YES	<u>NO</u>
57.	Could subject dress himself/herself without help?	YES	<u>NO</u>

58.	Could subject bathe himself/herself without help?	YES	<u>NO</u>
59.	Could subject use public transportation to get places without help?	YES	<u>NO</u>
60.	Could subject walk to places in his/her neighbourhood without help?	YES	<u>NO</u>
61.	Could subject walk without falling?	YES	<u>NO</u>
62.	Could subject walk without help?	YES	<u>NO</u>

63.	Could subject comb hair without help ?	YES	<u>NO</u>
64.	Could subject transfer between chairs without help ?	YES	<u>NO</u>
65.	Could subject get out of bed without help ?	YES	<u>NO</u>
66.	Could subject use toilet /commode without help ?	YES	<u>NO</u>
67.	Could subject's care still be provided at home ?	YES	<u>NO</u>

## Appendix:

### SCA Functional Composite Instruction Manual

#### General rules of SCA-FC application:

- The SCA-FC investigator can be different from the clinical investigator of the NHS and can also be a technician, if training is provided.
- The SCA-FC should be administered close to the beginning of the study visit to obtain optimal results, definitely before any other motor testing (e.g. SARA rating) is performed.
- The FC components should be assessed in the order given below without major pauses (< 5 min) inbetween. For discontinuation of a single component follow the discontinue rules.
- Instructions given to the patient should follow standardized procedures as given below. Practice trials are limited to those stated in the instructions.
- Efforts should be made to keep distractions during testing to a minimum (designated area for timed walk, separate room with only proband and investigator present for peg test and speech, phones turned off).
- Discourage the proband from talking throughout the 8m-walk test and 9-hole peg test.

It is important for data analysis to distinguish, if proband was unable to perform due to physical limitation or if a single component was not performed/rated due to other reason (time constraints, refusal by patient, no staff).

Any deviation from standard instruction due to proband's or examiner error or external interferences should be noted on the record form.

The stopwatch used should be counterchecked for accuracy with a different reliable stopwatch before the first SCA-FC assessment.

#### Timed walking test: 8m (25-foot) walk

##### Equipment:

- clearly marked 8 m line in designated unobstructed area to minimize external interference.
- stopwatch
- assistive device for walking, if needed by patient

##### Instruction:

The proband is directed to one end of the 8 m line and asked to walk the 8 m distance to the other end as quickly as possible but safely (Trial 1). Examiner walks along with the proband. Exact time is taken, recorded and stopwatch reset. The task is immediately administered again by having the patient walk back the same distance (Trial 2). Exact time is taken (excluding time for turning). Timing begins when lead foot passes the starting line and stops when lead foot passes the finish line. Walk time is reported to within 0.1 second, rounded as needed. Maximal rest period between both trials is 5 minutes.

Patients may use assistive devices, usually their customary device. For patients with significant gait impairment, the investigator should have the patient use a rolling walker, even if this is not the customary device (decision on assistive device to be made by neurologist). In general, non-wheeled walkers should not be used. Assistance of another person or using wall as support is not allowed. If such attempts are made more than twice, repeat the trial or reevaluate proband for use of assistive device. The same device should be used at follow-up if possible.

Discontinue rules:

1. if proband cannot complete a trial in 3 minutes.  
if proband cannot complete trial 2 of the timed walk after max. 5 –min rest period after trial 1, discontinue 8m-walk.

## Timed dexterity test: 9-hole peg test (9-HPT)

Equipment:

- stopwatch
- solid table (not rolling bedside table)
- Rolyan 9-hole peg test apparatus(plastic one-piece model) as provided by EUROSCA
- (exactly) nine pegs in the peg container of the 9-hole peg board
- adhesive material to anchor the apparatus on the table, e.g. Dycem™ obtained by suppliers of occupational therapy materials.

Instruction:

The pegboard is placed and secured on the table directly in front of the patient with the mould (peg container) in front of the hand that is going to be tested (i.e. to the right side, if right hand is tested). The dominant hand is tested first for two consecutive trials, immediately followed by two consecutive trials of the non-dominant hand. Handedness here refers to the hand that is used or has been used for writing the majority of time.

The following instruction is given to the proband:

**“On this test, I want you to pick up the pegs one at a time, using one hand only, and put them into the holes as quickly as you can in any order until all the holes are filled. Then, without pausing, remove the pegs one at a time and return them to the container as quickly as you can. We’ll have you do this two times with each hand. We’ll start with your (dominant) hand. You can hold the peg board steady with your (non-dominant) hand. If a peg falls onto the table, please retrieve it and continue with the task. If a peg falls on the floor, keep working and I will retrieve it for you. See how fast you can put all of the pegs in and take them out again.”**

Timing begins when patient touches the first peg and stops when the last peg is removed and hits the container. Time is reported to within 0.1 second, rounded as needed. After trial 1 of the dominant hand is completed, time is recorded and stopwatch reset. Then proband is asked to perform again with the same hand.

If subject stops after having put all the pegs into the holes, you may prompt the subject to continue directly with removing them one by one. If more than one is removed at a time, remind the proband to remove them one by one. If pegs drop onto the table within proband’s arm reach, proband is to retrieve it. If it falls on the floor or onto the table beyond proband’s reach, examiner is to retrieve it and puts it back in the container.

After trial 2 of the dominant hand, the pegboard is rotated 180° with the peg container towards the other hand and proband instructed as follows **“Now I’d like you to switch and use your (non-dominant) hand. This time you may use your (dominant) hand to stabilize the peg board.”**

Two consecutive trials are performed with the non-dominant hand.

No major pause between all four trials.

Discontinue rule:

1. if proband cannot complete one trial in 5 minutes (i.e. 300 seconds) with dominant hand, move on to the trials with non-dominant hand.
2. if proband cannot complete one trial in 5 minutes (i.e. 300 seconds) with non-dominant hand, discontinue 9-hole-peg test.

## Timed speech task: PATA rate

### Equipment:

- stopwatch
- tape recorder that can play at fast and slow speed. Recordings should be done at normal (2,4 cm/sec) speed, while counting is done by playing at slow speed. **OR**
- standard PC equipped with microphone, using audio software to visualize vocalization (e.g. free download of [www.audacity.sourceforge.net](http://www.audacity.sourceforge.net)). In this case, time count is included in the software. **OR**
- standard PC and text software

### Instruction:

The proband is asked to repeat "PATA" as quickly and distinctly as possible for 10 seconds until told to stop. Say "go" and as soon as patient starts speaking, start timer and begin counting the number of PATA repeats. After 10 seconds, stop timer and stop counting.

The test is performed two times without major pause (< 5min) inbetween.

The count of PATA repeats usually needs a technical device and can be done by different means: **1.** record the test on a tape recorder and use playback at slower speed for counting the numbers of PATA between the "go" and "stop" signal.

**2.** record the test on PC and count the numbers of PATA repeats within 10 seconds. Slow playback and time count is inherent in the software.

**3.** press any key on the PC keyboard for each PATA repetition in any text software looking at the stopwatch. After 10 seconds, count the number of keystrokes.

### Discontinue rule:

1. If PATA articulation is too difficult to distinguish for counting
2. If patient cannot complete 10 seconds for two consecutive trials

**SCA Functional Composite – Case Report Form**

**Rater (initials):** \_\_\_\_\_

<b>EUROSCA-Pseudonym</b>	
no. of annual visit (circle): 1   2   (3)   4 )	

**Date of examination:** \_\_\_\_\_

**Timed walking test: 8m (25-foot) walk**

	test not performed, reason: _____
	proband unable to walk due to physical limitations

assistive device	0	none	1	one cane /crutches	4
orthosis			2		
			3	two cane /crutches wheeled walker	

Did situations arise that necessitated repetition of a trial ( e.g. patient fell, external interference during walking, examiner forgot to start/ reset stopwatch) ?

\_\_\_\_\_

Other factors that might have affected performance ?

\_\_\_\_\_

Times are only given for two successfully completed trials.

<b>Trial 1</b>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr><td style="height: 40px;"></td></tr> <tr><td align="center"><b>8MW_T1</b></td></tr> </table>		<b>8MW_T1</b>	(0.1 sec)	<b>Trial 2</b>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr><td style="height: 40px;"></td></tr> <tr><td align="center"><b>8MW_T2</b></td></tr> </table>		<b>8MW_T2</b>	(0.1 sec)
<b>8MW_T1</b>									
<b>8MW_T2</b>									

## Timed dexterity test: 9-hole peg test (9-HPT)

test not performed,  
reason: \_\_\_\_\_

proband unable to perform test due to physical limitations

Did situations arise that necessitated repetition of a trial ( e.g. pegboard not sufficiently secured on the table, external interference, examiner forgot to start/ reset stopwatch/ turn pegboard) ?

—

Other factors that might have affected performance ?

—

Times are only given for two successfully completed trials for each hand

### DOMINANT HAND

Trial 1

9HD_T1

(with 0.1 sec)

Trial 2

9HD_T2

(with 0.1 sec)

Right

Left

### NON-DOMINANT HAND

Trial 1

9HN_T1

(with 0.1 sec)

Trial 2

9HN_T2

(with 0.1 sec)

Right

Left

**Timed speech task: PATA rate**

PATA rate task not performed, reason: \_\_\_\_\_

Proband unable to perform PATA rate task

Did situations arise that necessitated repetition of a trial ( e.g. patient coughing, external interference during testing, examiner forgot to start stopwatch/ tape) ?

\_\_\_\_\_

Other factors that might have affected performance ?

\_\_\_\_\_

Counts are only given for two successfully completed trials.

**Trial 1**

PAT_T1

**Trial 2**

PAT_T2