

**Bíráói vélemény dr. Sepp Róbert „Familiáris kardiológiai kórképek morfológiai, genetikai és klinikai vizsgálata” című MTA doktori értekezéséről.**

Bíráló: Prof. Dr. Csanádi Zoltán az MTA doktora

Sepp Róbert egyetemi docens több mint 20 éve foglalkozik szívizom betegségekkel és kardiológiai genetikával, utóbbi téren munkássága hazai viszonylatban egyértelműen úttörőnek számít. MTA doktori értekezése 17, köztük 3 első- és 11 utolsószerzős publikáción alapul. A dolgozatban, kissé szokatlan módon scientometriás összesítés nem szerepel, mint ahogyan a saját publikációkra kapott idézetek száma sem. Az MTA adatbázisa alapján a jelölt eddigi tudományos munkásságának teljes idézettsége 444, a Hirsch index 10. A közlemények megjelenési idejüket tekintve felölelik az utóbbi 22 évet, a jelölt eddigi kutatói életművét.

A dolgozat 164 számozott oldalt, ezen belül 37 ábrát, 18 táblázatot és 307 referenciát tartalmaz. Felépítése arányos: a bevezetés 13, a módszer 26, az eredmények 34 és a megbeszélés 27 oldal terjedelmű. A tudományos munka 3 fő iránya: „Aritmogén tényezők morfológiai és klinikai vizsgálata hipertófiás cardiomiopátiában”; „Kóroki mutációk azonosítása és fenotípus-genotípus összefüggések vizsgálata familiáris aritmogén kardiológiai kórképekben”, valamint „Megfigyelések perkután transzluminális septalis miokardium ablációval hipertófiás cardiomiopátiában”. Bár a vizsgált betegségek egy része ritkán fordul elő, súlyos lefolyásuk miatt ismereteink bővítése feltétlenül kívánatos, erre a genetika korszerű módszerei a korábbinál jobb lehetőséget kínálnak. A témaválasztást a személyre szabott orvoslás napjainkban egyre inkább előtérbe kerülő koncepciója különösen indokolttá teszi. Az említett, ritkán előforduló betegségek miatt az eredmények és megállapítások egy része kis mintaszámon, vagy esetközléseken alapul, ezek váltakozása a tervezett, szisztematikus klinikai vizsgálatokkal nem tette lehetővé klasszikus dolgozat szerkezet kialakítását. A teljes munka így is több mint 150 beteg klinikai adataira és Sepp Róbert tanár úr mintegy 2 évtizedet felölelő klinikai tevékenységére épül. A dolgozat nyelve világos, néhány esetben a szenvedő szerkezet elkerülése magyarosabbá tette volna a megfogalmazást. Helyesírási és elírási hibák a dolgozat terjedelméhez képest kis számban fordulnak elő. A disszertáció erőssége, hogy gazdagon illusztrált, a kitűnő ábrák, amelyeket a szövegben helyezett el, a témában kevésbé jártas olvasót is hatékonyan segítik a megértésben.

Tartalmi észrevételeim a következők:

Annak ellenére, hogy a jelöltet elsősorban nem aritmológusként ismerjük, a vizsgált kórképek közös nevezőjét leginkább az életveszélyes kamrai aritmiák és a hirtelen szívhalál

kockázat jelenti, szerencsés lett volna erre a címben is utalni. A bevezetés fejezet a 3 említett témakör külön-külön, egymást követő leírását tartalmazza. Hiányoltam néhány olyan bevezető gondolatot, amire ezek a szerteágazó kutatási témák felfűzhetők, ami egyfajta kohéziót, logikai kapcsot teremt közöttük. A Megbeszélés fejezetből pedig hiányoltam egy összegzést az eredmények klinikai relevanciájáról arról, hogy a napi terápiás gyakorlatunkat miben lenne fontos a jövőben megváltoztatni.

A munka hipertrófiás kardiomiopátiában megfigyelhető intercelluláris kapcsolatok változására vonatkozó része egy 1996-ban a Heart-ban közölt publikációra épül, ami a jelölt legmagasabb idézettséget elért közleménye. Ebben 6 HCM-es beteg szívéből származó mintán, Connexin 43 fehérje ellenes antitesteket használva vizsgálják a gap junction lokalizációjának változásait a HCM-re specifikus myocardial disarrayt mutató valamint egyéb területeken. *A 6 beteg életkorára, klinikai jellemzőire vonatkozóan semmilyen információ nem szerepel.* A metodikai leírás szerint a vizsgálatokat kontrollként egészséges, valamint hipertónia és aorta stenosis miatt hipertrófiás szívű betegekre is kiterjesztették.

*Kérdésem: Milyen súlyosságú HCM-es betegeken végezték a vizsgálatokat? Az aorta stenosisos vagy hipertóniás betegeknél találtak-e eltérést a gap junction elrendezésben?*

A különböző repolarizációs paramétereket 37 HCM-ban szenvedő betegen és 37 életkor és nemi eloszlás szerint hasonló egészséges kontrollon vizsgálták. A betegek szignifikánsan magasabb testtömeg index-szel rendelkeztek, mint az egészséges kontrollok. A korrigálatlan és különböző korrekciós formulák használatával számított QT idők, a QT diszperzió, a  $T_{peak}-T_{end}$  idő és a „beat to beat” rövid távú QT idő variabilitás egyaránt szignifikánsan különbözött a betegeknél. Az ekg repolarizációs paraméterei nem korreláltak az echocardiográfiás paraméterekkel, a rövid távú QT variabilitás ugyanakkor összefüggött a mágneses magrezonancia vizsgálattal meghatározott bal kamra hipertrófia indexekkel. Mindezek alapján jelölt javasolja a rövid távú QT variabilitás prognosztikai használhatóságának megítélését után követéses vizsgálatok során.

*Kérdéseim: A repolarizációs paraméterek vizsgálatát egymást követően diagnosztizált betegeken végezték, vagy voltak egyéb szempontjai a kiválasztásnak? Saját eredményei alapján, a hipertrófia index-szel mutatott összefüggés alapján lát-e egy lehetséges cut off értéket a rövid távú beat to beat QT variabilitásra vonatkozóan? Mivel magyarázza, hogy a bal kamra hipertrófia echocardiográfiás paramétereivel nem, az MR-val mért indexekkel viszont volt ekg korreláció.*

A kóroki mutációk azonosítása és fenotípus-genotípus összefüggések vizsgálata familiáris aritmogén kardiológiai kórképekben címszó alatt 45 HCM-es beteg szisztematikus vizsgálatát végezték. *Itt sem derül ki a dolgozatból, hogy ez a 45 beteg minek az alapján került be a vizsgálatba. Egy adott időszakban egymást követően diagnosztizált HCM-es betegekről van szó, vagy egyéb szelekciós szempont volt?*

A 45 beteg közül 6-nál találtak myoglobin-kötő C protein3 (MYBCP3) génmutációt, közülük 5 beteg összesen 62 családtagjánál végeztek mutáció analízist SSCP chromatográfiával az MYBCP3 génben és szomszédos intronikus régiójában.

*Kérdésem: Ehhez az összehasonlításhoz milyen minta szolgált negatív kontrollként?*

A 62 vizsgált családtag közül 30-ban igazoltak mutáció hordozó státuszt, valamennyinél heterozigóta formában. Az index betegeket is beleértve 10 személyben sikerült klinikailag is HCM-át igazolni, 3 család esetében a proband személyen kívül egyéb családtag nem volt érintett. Összességében a magyar HCM-ás beteg populációban a MYBPC3 génmutációk előfordulását 13%-nak találták, hasonlóan nemzetközi adatokhoz, nálunk is ez tűnik a leggyakrabban érintett génnek. A 3, korábban már közölt génhiba mellett 3 újonnan felfedezett mutációt sikerült azonosítani. A 10 klinikailag és genetikailag egyaránt HCM-nak diagnosztizált eset kifejezetten malignus lefolyásúnak bizonyult, 6 beteg halt meg, míg a 20 csak genetikai eltérést mutató egyénben mortalitás nem fordult elő.

Kóroki mutációk azonosítására irányuló vizsgálatokat végeztek HCM fenokópiákban, 2 esetben Danon betegség, 21 esetben Fabry betegség, 2 esetben transthyretin amiloidózis, 1 esetben mitochondriális HCM irányában. A LAMP2 gén két új, p.Trp321Stop és p.Pro324fs+24X, mutációját azonosították Danon betegségben. Új, Ile239Met, p.Tyr397Stop, c.548-57\_-56dupTA és ismert GLA génmutációkat azonosítottak Fabry kóros betegekben, akiknél kardiális és extrakardiális érintettség alapján merült fel a betegség gyanuja. A Fabry betegség prevalenciáját 17 %-nak találták olyan betegek körében, akiknél többszervi érintettségre utalóan, a hypertrophiás cardiomyopathia és bal kamra hypertrophia mellett más szervi manifesztációk is megfigyelhetők voltak. Két transthyretin amyloidosisos betegben 2 nem-szinoním transthyretin gén variánst azonosítottak, akiknél domináló hypertrophiás cardiomyopathia megjelenése volt megfigyelhető.

Három örökletes ion-csatorna betegség, Andersen-Tawil szindróma, Timothy szindróma és familiáris bradycardia 1-1 esetének vizsgálata kapcsán új, korábban nem ismert mutációkat írtak le. Familiáris bradycardiában az irodalomban közölt második legnagyobb

létszámú családot vizsgálták és a HC4 gén új, splice-site mutációját igazolták, valamint azt, hogy a nyugalmi bradycardia mellett kronotróp inkompetencia is fennáll, míg a frekvencia variabilitás megnövekedett.

Megjegyzés: A 3-4 táblázat és a 1-9 sorszámú ábrák *elhelyezése megkérdőjelezhető, szerző az eset közlések kapcsán érezhetően a módszer-eredmény elkülönítésének dilemmájával küzd, néhol következetes, a genetikai leletet tekinti eredménynek, máshol az egyéb klinikai eredmények (pl. ekg) keverednek, nem konzisztens helyen jelennek meg.*

Kérdéseim a dolgozat genetikai vizsgálatokat tartalmazó részével kapcsolatban: *Végzett-e, vagy ismer-e a genetikai vizsgálat költséghatékonyásával kapcsolatos bármilyen elemzést HCM-ra, HCM fenokópiákra, illetve általában kardiológiai kórképekre vonatkozóan? Ezen túlmenően, bár az idiopátiás cardiomyopathia congestív formáinak vizsgálata nem tárgya az értekezésnek, mint cardiovascularis genetikával foglalkozó szakember, látja-e értelmét rutinszerű genetikai vizsgálatoknak ebben a kórképben is?*

A disszertáció utólsóként tárgyalt témája a transzkatóéteres alkoholos abláció obstrukciót okozó septum hipertófia kezelésére. Ebben egy esetismertetés kapcsán felhívja a veszélyt arra a lehetőségre, hogy a bal coronaria rendszer gazdag anasztomózisainak köszönhetően, a septális ágba szelektíven juttatott alkohol a bal ágrendszerhez tartozó szívizom területeket is elérve a kívánatosnál lényegesen nagyobb kiterjedésű infarktust okozhat. Erre a helyzetre működő technikai megoldásként bemutatják a retrográd keringést támogató septális ág átmeneti ballon okklúzióját az alkohol befecskendezés időtartamára. Egy másik betegen a miokardiális perfúzió csökkenését videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével értékelik alkoholos ablációt követően. További 2 betegen a septális strain változását mutatják be 3-dimenziós speckle tracking echocardiográfiával. *Az ezekből a vizsgálatokból levont következtetések az alkoholos abláció hatásának predikciójára vonatkozóan ilyen kis esetszám mellett, utánkövetési eredmények nélkül véleményem szerint spekulatív.*

*Kérdésem, hogy az esetek közlése óta eltelt idő óta, (videodenzitometriával kapcsolatos kommunikáció 2015-ös, a speckle tracing-gel kapcsolatos 2013-as) van-e akár saját, akár irodalmi adat ezek klinikai alkalmazhatóságáról?*

A munka új megállapításainak, eredményeinek az alábbiakat tartom:

1. Leírta a szívmuszkulok mechanikus kapcsolódásáért felelős desmoszóma, és az elektromos kapcsolódásért felelős gap junction morfológiai eltéréseit hypertrophias cardiomyopathias szívmuszkul 'myofiber disarray' által érintett területein.
2. Megállapította, hogy az EKG repolarizációs paraméterei közül az ütésről-ütésre mért rövid-távú QT variabilitás (QT-STV) emelkedik a legnagyobb mértékben és mutatja a legjobb korrelációt a bal kamra hypertrophia indexeivel.
3. Új és ismert myozinkötő C fehérje génmutációkat azonosított: 45 magyar HCM-es betegben 6 kóroki myozinkötő C fehérje génmutációt, magas mortalitási aránnyal az index betegekben.
4. Igazolta, hogy magyar hypertrophias cardiomyopathias betegpopulációban a myozinkötő C fehérje génmutáció fordul elő a leggyakrabban, 13%-ban. A MYBPC3 mutációk által okozott hypertrophias cardiomyopathia idősebb korban manifesztálódhat és fiatalabb korban nem típusos a megjelenése. A kialakult betegség prognózisa a korábbi közlésekkel szemben nem jóindulatú, magas mortalitással, a hirtelen szívhalál, egyes esetben a dilatatív formába való progresszió kifejezett rizikójával járhat. Nem maga a mutációhordozó státusz ténye, hanem a HCM klinikai megjelenése és jellemzői a meghatározóak a prognózis szempontjából.
6. Valószínűsítette a MYBPC3 p.Gln1233Ter mutáció valódi kóroki szerepét HCM-ben.
7. Azonosította a LAMP2 gén két új, p.Trp321Stop és p.Pro324fs+24X, mutációját Danon betegségben, melyeket markánsan malignus fenotípus, a betegséghez köthető magas halálozási arány jellemez.
8. Új, Ile239Met, p.Tyr397Stop, c.548-57\_-56dupTA és ismert GLA génmutációkat azonosított Fabry kóros betegekben. Igazolta, hogy a GLA gén p.Ile239Met mutációja kóroki mutáció Fabry betegségben amely dominánsan késői kialakulású. Kimutatta, hogy a Fabry betegség prevalenciája 17 % olyan betegek körében, akiknél többszervi érintettségre utalóan, a hypertrophias cardiomyopathia és bal kamra hypertrophia mellett más szervi manifesztációk is megfigyelhetők.
9. Transthyretin amyloidosisos betegekben 2, nem-szinoním transthyretin gén variánst azonosított két betegben, akiknél domináns hypertrophias cardiomyopathia megjelenése volt megfigyelhető.
10. Azonosította a KCNJ2 gén egy új, korábban nem közölt Val302del mutációját, Andersen-Tawil szindróma hátterében. Funkcionális vizsgálattal igazolta, hogy a Val302del mutáció a

Kir2.1 fehérje membrán transzportját nem érinti, viszont erős, negatív domináns hatása van a csatorna által vezetett áramra.

11. A Timothy szindróma 1-es típusára specifikus CACNA1C gén 8A exonját érintő p.Gly406Arg mutációt mutatott ki syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk hiányával jellemzett Timothy szindróma variáns esetében.

12. A HCN4 gén egy új, korábban nem közölt 'splice site', c.1737+1 G>T mutációját azonosította egy nagy, familiáris bradycardiában szenvedő családban. Igazolta, hogy a mutáció csökkent szívfrekvencia válaszhoz, károsodott chronotrop kompetenciához és megnövekedett, rövid idejű szívfrekvencia variabilitáshoz vezet a mutációhordozókban.

13. Felhívta a figyelmet a perkután transzluminális septális myocardium ablatio (PTSMA) során potenciálisan problémát okozó abnormis kollaterális hálózatra és hatékony módszert mutatott be a helyzet megoldására.

Összefoglalva, a disszertációban a kardiológiai genetika és a szívizom betegségek szegedi műhelyének kiváló képviselője, a Csanády Miklós professzor által megkezdett munka méltó folytatója több évtizedes klinikai kutatásának tapasztalatait foglalja össze. Munkája mindenben megfelel az MTA doktori értekezésekkel szemben támasztott követelményeinek, hiteles adatokat tartalmaz, értékét rangos külföldi folyóiratokban történt publikációk is alátámasztják. A fentiek alapján javaslom a munka nyilvános vitára bocsátását.

Debrecen, 2018. június 29.



Dr. Csanády Zoltán

az MTA doktora