

Válasz Prof. Dr. Igaz Péter bírálataira

Köszönöm Professzor Úr alapos bírálatát, köszönöm az elismerő sorokat. A megfogalmazott kritikát elfogadom. Az alábbiakban egyenként válaszolom meg Professzor Úr kérdéseit.

A KCNJ11 mutációval társult diabetes mellitus sulfanylurea kezelés kapcsán azt írja a jelölt, hogy a sulfanylurea kezelés a terhesség alatt is biztonságos lehet, amennyiben a magzat is mutáció hordozó. A hivatkozott esetben azonban a gyermek mutációanalízise újszülöttkorban, köldökzsinórvér mintából történt, nem pedig még a terhesség alatt. Mi volt a magyarázat arra, hogy az egyébként utólag sikeresnek bizonyult, de ismertén terhesség alatt ellenjavallt sulfanylurea kezelést ebben az esetben terhesség alatt alkalmazták?

A váltás oka az volt, hogy a várandós kismama esetében az inzulin kezelés igen labilis anyagcsereállapottal járt (ún. brittle diabetes). Erre való tekintettel a helyi Etikai Bizottság a kezelés váltást engedélyezte. A sulfanylurea (SU) gyógyszerek különböző típusai az FDA meghatározása szerint B vagy C kategóriájúak, azaz az állatkísérletek vagy nem mutattak káros hatást (B) vagy mutattak (C), de a gyógyszer terhesség alatti használatával elért nyereség nagyobb lehet, mint a lehetséges kockázat. Mivel az édesanya genotípusa ismert volt, elvileg lehetséges lett volna a prenatális diagnosztika, viszont az invazív mintavétel kockázata megítélésünk szerint nagyobb volt, mint az általa megszerzett genetikai információ értéke - a magzati genotípus jelentősége akkor még nem volt ismert. Ideális a nem invazív mintavétellel történő célzott analízis lenne, ilyenre, ugyan a könnyebbik esetben, az apai öröklődésű allél vizsgálatára azóta már volt példa. A magzat növekedésének ultrahang vizsgálattal történő követése lehetséges alternatívát jelent. Esetünkben az *in utero* sulfanylurea kezelés eredményes volt.

A Marfan-szindróma esetében a betegség súlyosságával összefüggésbe hozható genotípus-fenotípus összefüggések tételezhetők fel. Vannak adatok arra vonatkozóan, hogy ezek a fehérje működésének vonatkozásában milyen funkcionális következménnyel járnak?

A Marfan szindróma komplex pathogenezise a mai napig nem tisztázott. A fibrillin-1 az elasztikus rostok kialakításában és szerkezetének fenntartásában alapvető mikrofibrillumok legfontosabb összetevője. Az *FBNI* (OMIM 134797) génhez nyolc különböző betegséget társítanak - gyakran rendkívül különböző fenotípussal. Ezek közül négy a Marfan szindróma, illetve átfedő fenotípussal járó allélikus betegségek. A másik csoport egyikét, az alacsonynövésű, csont- és ízületi eltérésekkel járó acromicric dysplasiát (OMIM 102370) teljes genom szekvenálással mi is diagnosztizáltunk már. Ez esetben az *FBNI* 41-42-es exonok által kódolt TGF- β -kötő fehérje-szerű domén-5 (TB5) az érintett. Az acromicric dysplasiával két átfedő fenotípussal járó allélikus betegség ismert (OMIM 614185, geleophysic dysplasia 2 illetve OMIM 608328, 2-es típusú autoszomális domináns Weill-Marchesani szindróma). A TB4 domént kódoló e37 mutációi az ún. stiff skin szindrómát okozzák (OMIM 184900). A TB4 domén funkcionálisan különösen fontos, mert a fibrillin-1 egyetlen integrinkötő RGD motívumát tartalmazza. A legpontosabb genotípus-fenotípus összefüggések a Marfan szindróma esetében a neonatális, legsúlyosabb formánál a legkifejezettebbek. Ekkor a 23-32 exoni régió mutálódik, gyakran *de novo*. E régió nyolc kalcium-kötő cbEGF domént tartalmaz.

A további esetekben a genotípus-fenotípus összefüggések sokkal kevésbé karakterisztikusak. Amiben a Marfan szindrómát okozó mutációk szerkezeti következménye általánosnak tekinthető, az a kevesebb számú és/vagy hátrányosan megváltozott szerkezetű mikrofibrillumok megjelenése, mely a kötőszövet gyengeségével áll az aorta tágulat és ruptura hátterében. A mikrofibrillumok patológiájának fő funkcionális következménye a TGF- β szignalizáció egyensúlyának felborulása - részleteiben nem ismert molekuláris pathomechanizmussal.

Professzor Úr kérdése nemcsak azért is nagyon releváns, mert felhívja a figyelmet az ugyanazon gén által okozott különböző klinikai fenotípussal járó kórképekre, hanem azért is, mert rávilágít a klinikai genetika egyik legnagyobb feladatára: a megfelelő interpretációhoz elengedhetetlen funkcionális vizsgálatok jelentőségére és nehézségére. A genotípus-fenotípus összefüggések feltárása a családok szempontjából (diagnózis, prognózis, követés) és az esetleges orvosi beavatkozás időzítése szempontjából egyaránt fontos.

Smith-Lemli-Opitz szindróma esetében végzett vizsgálatain kapcsán felveti annak a lehetőségét, hogy a hétköznapi gyakorlatban gyakran alkalmazott pszichiatriai szerek (pl. aripriprazole) szedése tünetmentes heterozigóták várandóssága esetén kockázatokkal járhat. Ismer-e olyan kezdeményezést, ami e gyógyszerek szedését pl. a 7-DHC szint előzetes méréséhez kötné?

Ez ismét egy nagyon izgalmas kérdés, hálás vagyok érte, mert így kifejtetem az ezzel kapcsolatos nézetemet. Azt gondolom, a *DHCR7* genetikai státusznak nagy népegészségügyi jelentősége van - csak még nem ismertük fel. Az aripriprazole 7-DHC szintet *in vitro* és *in vivo* emelő hatása ismert, heterozigóta genotípus esetén ráadásul ez a hatás még erőteljesebb. Az elvileg toxikus tartományba emelkedett 7-DHC szint magzat károsító hatású lehet, hiszen az aripriprazole szignifikáns placentáris transzferrel bír valamint átjut a vér-agy gáton. Amerikai kollaborátorunk egérkísérleteit követően felhívta a figyelmet a potenciálisan veszélyes *anyai genotípus x magzati genotípus x kezelés* kombinációra és az alábbi ajánlásokat fogalmazza meg:

- az SLO betegek ne szedjenek bizonyos, 7-DHC szintet emelő gyógyszereket (aripriprazole, trazodone, haloperidol),
- ezen gyógyszerek lehetséges, hogy nem biztonságosak a populáció 1-1,5%-a számára (*DHCR7* patogén mutáció hordozók),
- a *DHCR7* prenatális és szülői genetikai tesztelése terhességben ajánlatos az ilyen gyógyszerek felírása esetén.

Azt gondolom, hogy a hasonló eredmények mindenképp indokoltá teszik a teljes exom/genom szekvenálási adatsorokból az ilyen irányú analízisek elvégzését, függetlenül attól, hogy eredetileg milyen célból készült a szekvenálás. Meggyőződésem, hogy egy nemzedéken belül mindenki exomja/genomja meg lesz szekvenálva, figyelembe véve az egészségre gyakorolt óriási hatást és a költségek gyors csökkenését. Ha ez bekövetkezik, akkor nemcsak csökkenthető a súlyos genetikai betegségek következő nemzedékbeli incidenciája, de az egyén számára is komoly egészségnyereség érhető el a preszimptomatikus/prediktív medicina felé történő paradigmaváltással illetve a fenti, végeredményben egyfajta kiterjesztett farmakogenetikai adatok helyes használatával.

A Gas6 mérésének milyen klinikai jelentőség tulajdonítható, milyen betegségek, kórállapotok diagnózisában merülhet fel alkalmazása?

A Gas6 esetében nagyon szerteágazóak voltak azok a klinikai területek, ahol a fehérje mérésének jelentősége lehet. A teljesség igénye nélkül néhány, a disszertációban részletesen nem említett megfigyelés: a Gas6 szint összefüggést mutat primer biliáris cholangitissel, diabeteses nephropathia kialakulásával, SLE-ben kialakuló lupus nephritissel. Szepszis mortalitás és akut tüdőkárosodás előrejelzésére való használhatóságát is vizsgálták. Játsszhat szerepet vénás thrombosis ismétlődésében és az atherosclerotikus plakk átépülésében. Úgy tűnik azonban, hogy ezek a megfigyelések sokkal inkább a pathomechanizmus felderítésében jelentősek, hiszen a mai napig nem került a piacra CE-IVD jelölésű, egyértelmű klinikai indikációt megjelölő diagnosztikai kit. Ennek egyik oka lehet a generális, több szervre, szervrendszerre kifejtett hatáson túl az is, hogy nem egyszerű elkülöníteni a Gas6 esetleges önálló, illetve receptorain keresztül kifejtett hatását, valamint a K-vitamin függő (N-terminális) és független (C-terminális) hatásokat. Mindezek alapján az bizonyos, hogy a Gas6 számos biológiai folyamatban szerepet játszik, de markáns, egyedi hatása kevésbé valószínű.

Az oligo- és azoospermia okai kideríthetőek voltak-e a vizsgált betegek körében és sikerült-e ezek és a mikroRNS-ek expressziós különbségei között összefüggést találni?

Vizsgálatainkban a 11 legismertebb spermatogenezisben részt vevő mikroRNS-t (let-7a, miR-7-1-3p, miR-15b, miR-16, miR-34b, miR-122, miR-141, miR-181a, miR-200a, miR-429, miR-449a) szintjét vizsgáltuk infertilis férfiak és egészséges kontrollok mintáiban. Három miRNS, a miR-16, a miR-181a és a miR-449a nem mutatott különbséget, a többi igen (5 felül-, 3 alulszabályozottnak bizonyult). Fentiek alapján e nyolc mikroRNS noninvazív biomarkerként való használhatósága valószínűsíthető. Vizsgálatainkkal kimutattuk a spermium és ondó folyadék miRNS tartalmának különbségét valamint a mikroRNS expresszió és spermiumszám közötti összefüggést.

A sperma mikroRNS-einek vizsgálata mellett nem történt-e párhuzamosan a vér keringő mikroRNS-einek vizsgálata is, hiszen számos más testfolyadék esetében mutattak már ki korrelációkat?

Sajnos nem. Kísérleteink megtervezésekor a munkahipotézis a spermium és ondó vizsgálatára koncentrált, mert ez volt a kevésbé kutatott terület. Mindazonáltal szerencsésebb lett volna a könnyen hozzáférhető plazma/szérum mikroRNS szinteket is egyidejűleg vizsgálni.

Még egyszer köszönöm Professzor Úr kérdéseit, tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Debrecen, 2021. 03. 10



Dr. Balogh István