

Válasz Prof. Dr. Miseta Attila bírálatára

Köszönöm Professzor Úr körültekintő, hasznos és elgondolkodtató bírálatát. A benne foglalt elismerést köszönöm, a megfogalmazott kritikát elfogadom. Az alábbiakban egyenként válaszolom meg Professzor Úr kérdéseit.

Az FV antigén kimutatásával kapcsolatban: nem lehetséges-e, hogy a reziduális aktivitást, ami az élethez szükséges más részben homológ, vagy funkcionálisan rokon fehérje biztosítja? Természetesen a szerző által valószínűsített ok is egy lehetséges válasz. A trunkált fehérjék sorsára vonatkozóan történtek-e vizsgálatok pl. trunkált mRNA jelenléte, vagy a keletkezett hibás fehérjék degradációja irányába?

A FV funkcionálisan releváns 'A' doménjei a cöruoplazminnal, 'C' doménjei a discoidin-szerű fehérje családdal mutatnak homológiát. Az A és C domének 35-40%-ban homológok a FV és FVIII fehérjékben. Elképzelhető, hogy eddig fel nem tárt redundancia áll az életfontosságú funkció fenntartása hátterében, mindenesetre nagyon figyelemreméltó, hogy a FV deficiencia esetében általánosságban milyen kevéssé korrelál a reziduális FV szint a klinikai súlyossággal. A FV deficiencia ritkán jár életet veszélyeztető vérzéssel, a jelenleg elfogadott álláspont az, hogy az - egyébként laboratóriumi diagnosztikai módszerekkel gyakran ki sem mutatható - 1% alatti FV szint is elegendő lehet trombin generációhoz. A trunkáló mutációk súlyosabb fenotípussal járnak. További mRNS szintű, illetve fehérje degradációra vonatkozó vizsgálatokat nem végeztünk, mivel azonban a 16-os exonban bekövetkező mutációt tartalmazó allélről keletkezett trunkált fehérje igen kis mennyiségben kimutatható volt (immunprecipitációt követő immunblotting módszerrel), így ebben az esetben a nonszensz-mediált mRNS lebomlás (NMD) kizárható, míg a 13-as exonban bekövetkező mutációt tartalmazó allélről átíródó mRNS valószínűleg az NMD áldozata lett.

A HNF4A esetében mennyire volt kiterjedt a rokonok vizsgálata?

A vizsgált beteg a családfa analízis alapján apai oldalról örökölhette a c.869G>A, p.Arg290His mutációt. Édesapja diabeteze 36 éves korában kezdődött, nem volt elhízott. Az édesapa 6 testvére közül 5 diabeteses volt, de már egyikük sem él, így mintavételre nem kerülhetett sor. A beteg és szintén mutáció hordozó diabeteses lánya összesen 19 év szükségtelen inzulinterápiában részesült, az alacsony dózisu gliclazid mindekettejük esetében hatékony volt.

SLO esetében nem lenne-e hatékony (próbálták-e) az UVB kezelést? Ez a 7-DHC-t D vitaminná alakítja. Valószínűleg persze az idegrendszeri tüneteket nem befolyásolná.

Nem próbáltuk. Figyelemreméltó, hogy az SLO betegek kb. fele súlyos UV-A-mediálta fotoszenzitivitással küzd. A bőr 7-DHC tartalmának szerepe a betegség pathogenezisét illetően nem ismert, de mivel az SLO-ban szenvedők számos súlyos tünettől rendelkeznek, melyek

inkább valóban a neurológiai károsodások dominanciáját jelzik (a vázrendszeri, cardiovascularis, urogenitális, gastrointestinális rendellenességek mellett). Mivel az adatok a 7-DHC esetében a magas reaktivitás, oxisztatol képződés pathogenetikai szerepét jelezték, ezért fordultunk az E-vitamin kezelés irányába.

A gyakori CFTR stop mutációk pl.F508del esetében az aminoglükozid antibiotikumok stop kodont "átolvasó" hatása miatt kedvező hatást írtak le (Annu Rev Genomics Hum Genet. 2014;15:371-94.) maga a megfigyelés elég régi (több, mint 20 éves). Időközben kevésbé toxikus anyagokon is dolgoztak. Nem lenne-e érdemes a hazai orvos közönség elé tárni ezeket a megfigyeléseket?

A CFTR variánsok osztálytól függő célzott kezelési stratégiája rendkívüli fejlődésen ment keresztül az elmúlt évtizedben. A hagyományos terápia fejlődése is lassítja a betegség progresszióját. A mutáció-specifikus modulátor terápia és a hazánkban lassan bevezetésre kerülő újszülöttkori szűrés hatása a következő évtizedben lesz mérhető, de az már most is látszik, hogy a CF megszűnik gyermekek betegségének lenni, a születéskor várható élettartam a fejlett országokban folyamatosan nő. A Professzor Úr által említett átolvasó terápiák CF területén nem hozták meg a várt áttörést, a legígéretesebb PTC124 (Ataluren) esetében a gyártó 2017-ben leállította a további tesztelést. Egészen más a helyzet a modulátor terápiákkal, melyek jelentősége nehezen túlbecsülhető. Jelenleg FDA által négy elfogadott modulátor terápia van:

1. Ivacaftor (Kalydeco): legalább 4 hónapos életkor és az egyik allél egy jelenleg 97 tagú variánslistából egy.
2. Lumacaftor/ivacaftor (Orkambi): legalább 2 éves életkor, F508del homozigóta genotípus.
3. Tezacaftor/ivacaftor (Symdeko): legalább 6 éves életkor, F508del homozigóta genotípus, vagy egy jelenleg 154 tagú variánslistából egy allél.
4. Elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor (Trikafta): legalább 12 éves életkor, egyik allél F508del vagy egy jelenleg 177 tagú variánslistából egy.

Ezek a gyógyszerek a nem megfelelő csomagolódású, intracellulárisan megrekedő fehérjék korrektebb csomagolódását, citoplazma membránba kijutását segítik, valamint a kijutott csatorna nyitási valószínűségének megnövelésével állítják helyre/javítják a klorid áramot. Egyiküket, az Orkambit tavaly decemberben befogadta a NEAK, elsőként a modulátor terápiák közül. Az elmúlt években nagy erőfeszítéseket tettünk a CF hazai mutációs spektrumának felmérése érdekében, melyhez egy ritka betegségekkel foglalkozó pályázat (GINOP-2.3.2-15-2016-00039) és a teljes magyar CF közösség (kezelőorvosok és a Cisztás Fibrózis Betegek Egyesülete) nyújtott felbecsülhetetlen támogatást. E munka eredménye a disszertáció 19., még nem publikált táblázata, melyben bemutatjuk a fenti terápiáknak megfelelő magyar betegek számát, míg a közlemény jelenleg összeállítás alatt áll, reményeink szerint az Orvosi Hetilap közlésre méltónak találja majd.

Mit tudunk azokról az életmódi tényezőkről, melyek a policisztás vesebetegség előrehaladását befolyásolják?

A policisztás vesebetegség heterogenitása miatt ezt a kérdést nagyon nehéz megválaszolni. Az általunk vizsgált beteg kohorsz ARPKD fenotípusú betegeket tartalmazott, de a differenciáldiagnózis magába kell, hogy foglalja többek között a korai jelentkezésű ADPKD-

t, a *HNF1B* nephropathiát is. Éppen ebben van a genetikai tesztelés egyik nagy jelentősége, hogy a különböző etiológiájú policisztás vesebetegség típusok más-más természetes betegséglefolyással bírnak. Addig, amíg a *HNF1B* nephropathia esetében a vesefunkció jól megtartott, az ARPKD esetében az első életévi mortalitás 30% és a betegek fele esetében elengedhetetlen a vesetranszplantáció 20 éves életkor előtt. Az ADPKD esetében, a tünetek későbbi jelentkezése okán a progresszióban nagyobb tere lehet az életmódi tényezőknek. A ciszták növekedéséhez és a betegség progressziójához hozzájárulhat a nagy mennyiségű koffein fogyasztása. A koffein a foszfodiészteráz inhibícióján át növeli a cAMP szintet a ciszta epithélben, ami emelkedett sejt proliferációt okoz. Retrospektív megfigyelések azt mutatták, hogy a gyorsabb betegség progressziót mutató betegek nagyobb arányban, illetve többet dohányoztak, mint a lassú progressziót mutatók. Fentiek mellett a proteinben szegény étkezés és a nagy mennyiségű vízivás betegség progressziójára gyakorolt jótékony hatását igazolták.

A molekuláris biológiai vizsgálatok elsődleges szerepe továbbra is a diagnosztikában, szűrésben van. A modern szekvenálási technikákkal mennyire lenne érdemes a prenatális diagnosztika kiterjesztése?

Ez a közeljövő egyik legfontosabb, a szakmát érintő kérdése. Jelenleg az új generációs szekvenálással (NGS) végzett prenatális tesztelésnek három szintje elfogadott:

1. Prenatális, de nem a magzati mintán végzett tesztípus a hordozó szűrés. Ekkor a szülőket vizsgálják autoszomális vagy X kromoszóma-hoz kötött recesszíven öröklődő betegség hordozó állapotának felmérése céljából. E vizsgálatnak a nagyobb prevalenciájú genetikai betegségek esetében (pl. CF), illetve a magas rokonházasági aránnyal rendelkező populációk esetében van nagyobb jelentősége. Azért soroltam ebbe a csoportba, mert gyakran nem prekoncepcionálisan, hanem már a várandós korban kerül sor a vizsgálatra.
2. Magzati monogén betegség vizsgálata NGS technikával génszinten. Ilyen helyzet akkor áll elő, ha a családban volt már ki nem vizsgált, de egyértelmű klinikai fenotípussal járó monogén kórkép (pl. Duchenne izomsorvadás) és a magzati minta vizsgálata esélyt adhat a diagnózis időbeni felállítására. Ekkor a mintavétel invazív, chorion biopszia vagy amniocentézis. Ennek egy izgalmas ága a szabad keringő DNS NGS vizsgálata monogén betegségek területén.
3. A gyakori kromoszóma aneuploidia noninvazív szűrése (NIPT, non-invasive prenatal testing). A módszer azt a felismerést használja, hogy az anyai keringésben szabad magzati DNS mutatható ki. Az erre épülő NGS tesztek mostanra több milliárd dolláros üzleti bevételt generálnak az azt szervező és kivitelező cégeknek, ugyanis ezek a tesztek általában nem a klasszikus klinikus - klinikai genetikus - genetikai diagnosztikai laboratórium útvonalat követik, hanem a klinikus (szülész-nőgyógyász) - laboratóriumi diagnosztikát végző gyártó cég vagy tesztet lizencelő cég útvonalat. A minta, illetve adat ezen globalizált áramlása meglehetősen aggályos, de kialakított és betartatott nemzeti szabályozások hiányában a hatóságok általában tehetetlenek a tendenciával szemben. A NIPT tesztek megbízhatóak, Down szindróma esetén a szenzitivitás elérheti a 99,9%-ot is. Az utóbbi időkben a gyártók ezeket a tesztek kiegészítik több mikrodélciós szindróma vizsgálatával is, amely analízis már klinikai hasznosságát illetően megkérdőjelezhető és esetenként nehezen interpretálható. A NIPT tesztek nagy előnye, hogy jelentősen csökkentik az invazív mintavételek számát. Fentieknél sokkal aggályosabb fejlődési irányok is vannak. A NIPT mikrodélciós kiegészítése a nem invazív prenatális tesztelés nem egyetlen iránya: mind a kereskedelmi forgalomban elérhető szolgáltatás gyártói kezdeményezésre történő kiegészítése monogén betegségek

analízisével mind az invazív mintavétellel nyert magzati DNS felhasználásával végzett egyre terjedő exom szekvenálás súlyos etikai/interpretációs kérdéseket vet fel.

Röviden szeretnék még reagálni Professzor Úr alábbi kritikai megjegyzésére:

Kritikai megjegyzésem az, hogy genuin új felvetések aránylag csekély számban merültek fel, inkább jól ismert problémák részleteinek a kidolgozása, hozzáteszem igen magas szinten, ami jellemzi a jelölt tevékenységét.

A felvetéssel mélyen egyetértek, a kritikát elfogadom és azt hiszem, hogy a gyakorló klinikai laboratóriumi genetikus legfőbb dilemmájára hívja fel a figyelmet, nevezetesen, hogy hogyan szolgálhatom legjobban a képességeimnek megfelelően a közösséget. Én mindkét úton jártam, hiszen a PhD munkám és ezen disszertáció egyes - legjobban idézett - közleményei a klasszikus alap kutatás területén készültek két kivételes kutató, Muszbek László és Björn Dahlbäck irányításával. A szenvedélyem azonban - amely egy fejlett diagnosztikai repertoárt alkalmazó, a rendkívül gyors módszertani ugrásokat implementálni képes hazai laboratórium megszervezésében és menedzsmentjében nyilvánul meg a súlyos, életminőséget rettentően romboló betegségekkel küzdők javára gyakran kihívásokkal teli körülmények mellett is - megmutatta, hogy hol a helyem.

Még egyszer köszönöm Professzor Úr észrevételeit és lényeglátó kérdéseit.

Tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Debrecen, 2021. 03. 10



Dr. Balogh István