

**Dr. Molnár Mária Judit "Új eredmények a neuromusculáris betegségek molekuláris diagnosztikája és therápiája területén" című MTA doktori értekezés véleményezése**

A **bevezetés**, a munka előzményeinek irodalmi összefoglalása szinte tankönyv szintű. Rendkívül részletes és alapos, nehéz olvasmány azok számára, akik nem ebben a területben dolgoznak közvetlenül. Ugyanakkor nagyon jó iránymutatást ad a rendkívül nagy anyagban való tájékozódáshoz, s ebben helyezi el saját eredményeit is. A neuromusculáris betegségek közül három területet: a mitochondriális betegségek, az izomdystrophiák és az öröklött neuropathiák molekuláris alapjait, jelenlegi diagnosztikai lehetőségeit, a therápiás vonatkozásokat ismerteti. Az összefoglalás tartalma példaszerű. Logikus és informatív, a mai tudásunkat tükrözi. Önmagában is érték, jelentős intellektuális teljesítmény. A szerző feltételezi olyan alapismeretek tudását a bírálók részéről, melyeknek maga van birtokában. Ezt tükrözi az olvasást igen megnehezítő tömeges rövidítés. Előfordul olyan mondat, melynek csaknem minden mondatrésze rövidítés. Ezek egy részének a jegyzéke a disszertációban hét oldal terjedelmű. Még így is azonban számos rövidítésnek kényszerültem utánanézni ahhoz, hogy megértsem a tartalmat. A sok adatban már becsúsznak apró hibák ("materiálisan" öröklődő DNS a maternális helyett, a nehéz és könnyű lánc rövidítésének az összecserélése, a magyar nyelvben "hunglish"-nak számító trunkált protein kifejezés). A gépelési hibák a disszertáció vége felé szaporodnak.

**Ebben a fejezetben egy tartalmi kérdés is felmerül. Utalás történik egy korai dolgozatra, melyben dystrophin deficienciában az intracelluláris calcium tartalmat csökkentnek találtak lymphocytákban, s arra következtetnek, hogy ezt jól magyarázza a dystrophin hiány következtében kialakuló sejtmembrán károsodás. Lehet-e a lymphocytá calcium tartalmáról az izoméra következtetni? A legtöbb sejtet destruáló folyamat éppen az intracelluláris calcium tartalom növekedéssel jár.**

A **módszereket** leltárszerű pontossággal sorolja fel. Valamennyi modern, a feltett kérdések megválaszolására alkalmas. Olyan sokrétűek, hogy ennyi módszert uralni és megbízhatóan alkalmazni nagyon nehéz. Szükséges a neurológia, fény és elektron mikroszkópos morfológia, az elektrofiziológia, a genetika és molekuláris biológiai magas szintű ismerete. Ehhez a tapasztalaton és a tanuláson kívül különleges adottságra is szükség van. A rövid leírásokon érződik az angoltól történt fordítás, de elárulja az is, hogy egy-egy angol szó bennük felejtődött.

Az **eredmények** ismertetése hasonlóan pontos, megadja a közlések adatait.

A mitochondriális betegségekben közölt eredmények 3 eset bemutatásával kezdődnek, melyekben új mitochondriális DNS rendellenességeket ismertet a szerző. A genetikai rendellenességek meghatározásán kívül ezekben az esetekben a klinikai diagnosis is bravúrnak számít. A közleményekből vett histológiai ábrákkal is demonstrálja a talált morfológiai eltéréseket, azonban az elektronmikroszkópos képek minősége a nem fotópapíron való nyomtatás miatt információ veszteséssel jár. Ismert mitochondriális

mutációkhoz új fenotypust, a depresszív tünetegyüttest rendeli hozzá. **Kérdéses, hogy ez a hangulatzavar valóban a mitochondriális rendellenesség tünete, vagy a somatikus tünetek okozta hátrány megélésére történő reakció, vagy szimplán komorbiditás. A hangulatzavarok genetikai befolyásoltsága ismert. A serotonin transportert befolyásolja-e a mitochondriális dysfunctio? Mi igazolja, hogy a depresszió valóban a mitochondriális működészavar következménye? A pszichiátriában a depressziós, de mitochondriális betegségben is szenvedő betegek therápiája, különösen az antidepresszánsokkal való kezelése vitatott. Lehet-e tudni, milyen antidepresszáns kezelést kaptak a betegek, s milyen volt azoknak a hatása.**

Elemzik a mtDNA tRNA gén mutációk jelentőségét a mitochondriális betegségekben. Számos, az irodalomból ismert pathogén mutációt találtak a vizsgált betegekben. Új pathogén mtDNA substitutiót írnak le. Kontrollként nagyszámú egészséges egyén tRNA génszakaszát használták. Ún. epidemiológiai vizsgálatokat is végeztek. A klinikai tünetek alapján mitochondriális betegségben szenvedők között vizsgálták a MELAS és a MERRF mutációinak előfordulását. Más populációkkal összehasonlítva is ez meglepően alacsony a betegségek ismertségéhez képest. A mégis meglévő populációs különbségeket a mintavételnek (a klinikai tünetek értékelésének) a különbségeiben vélik. Autosomális domináns progresszív ophthalmoplegia externa és az RRM2B (nucleáris)gén heterozygóta mutációjának együttes előfordulását is észlelték. A szerző irodalmi és theoretikus magyarázatát adja annak, hogyan függhet ez össze az egyidejűleg igazolt multiplex mitochondriális DNS deléciókkal.

Dicséretes, hogy a genetikai rendellenességek leírása mellett mindig kitérnek a klinikai megjelenésre, de a klinikai képtől független általános megállapításokig is eljutnak, mint pl. a cerebrális glukóz metabolizmus csökkenésének a megállapítása PET vizsgálattal.

Heteroplasmias egérmódelben a mitochondriális betegségek prenatalis felismerésének módszerét, az utód betegségének lehetséges predictióját is kidolgozták.

A sok, kezdetben rutinnak tűnő vizsgálat az izomdystrophiák pathogenesisében is hozott új adatokat. A dystrophin deficiencia társulása calpain deficienciával enyhébbé teszi a betegséget, a süketség a dystrophin deficiencia allélikus variánsa lehet, s a dysferlin génben új pontmutációt talált a szerző. A végtagöv típusú izomdystrophiákban az esetek kis részében az alpha-dystroglycan hypoglycosilációjának genetika okát nem sikerült kimutatni. A további szükséges vizsgálatokat tekintve reális útmutatást kapunk, mely a jelenlegi lehetséges genetikai vizsgálatokon túlmutat, s a nem kódoló DNS jelentőségére hívja fel a figyelmet.

Therápiás kísérletként elektroporációval próbálták javítani a plasmid vektorral történő transzekciót mdx egerek izomzatában. A leghatékonyabb transzekció feltételeit kidolgozták, de csak részeredményekről tudnak beszámolni, s az eljárás nem tűnik alkalmasnak az izomrostok kollaterális károsodása miatt a humán alkalmazásra. A sonoporáció alkalmazhatóságát és biztonságosságát egészséges önkénteseken tesztelték, s az izomrostok esetleges károsodását az alkalmazás helyéről és az ellenoldali végtagból vett izombiopsiás

minta vizsgálatával is ellenőrizték. **Milyen motivációval vetették alá magukat ezek az önkéntesek a fájdalommentesnek nem mondható izombiopsziás mintavételnek? Ha a sonoparatio nem is károsítja a normál izomrostokat, lehet-e ebből azt a következtetést levonni, hogy a beteg izomrostokat sem károsítja?**

A hereditár perifériás neuropathiák vonatkozásában, szintén a rutin vizsgálatokból elindulva, új felismerésekhez jutottak. Új mutációkat írtak le az MPZ génben, a magyarországi romák vizsgálatával az NDRG1 génben, a CTDP1 génben.

Az általuk vizsgált valamennyi mitochondriális betegségcsoportban a nervus surálisban a myelinizált axonok száma csökkent. Ezt perifériás neuropathiaként értékelik, mely azonban klinikailag kategorizálva nincs. **Milyen neuropathiás tünetekkel, panaszokkal járt?**

A gyulladáshoz társuló myopathiák (zárványtestes és polymyositis) vizsgálata során vett nervus surális biopsziás mintákban szintén neuropathiás jeleket láttak, s enyhe-középsúlyos **polyneuropathiát** állapítottak meg. **Pusztán a nervus surális vizsgálatával nem adekvát a polyneuropathia diagnosis, csak a neuropathia, mint ahogy ez az idézett közlemény címében van.** A gyulladáshoz társuló myopathiákban az EMG is gyakran kevert, neurogén-myogén károsodást mutat a gyulladáshoz az izomról az ideg distális szakaszára való terjedése miatt. Vagyis ez nem tekinthető újdonságnak. Annál inkább újdonság az a tény, hogy ahol a gyulladáshoz társuló myopathiákban a morfológiai vizsgálat pathológiás mitochondriumokat talált, a mitochondriális DNS multiplex deletióját lehetett kimutatni. **Hány százaléka volt ez az idiopathiás gyulladáshoz társuló myopathiának? Lehetséges-e, hogy ezek mitochondriális betegségek voltak, melyekhez másodlagosan társult a gyulladáshoz társuló reakció.**

A vizsgált CADASIL-hoz társult neuropathia és myopathia szintén mitochondriális betegség morfológiai jeleit mutatta. **Az adatok alapján a betegségek véletlen társulásáról lehet szó, vagy a NOTCH3 gén mutációja a mitochondriumokat is befolyásolja?**

**A Perifériás myelin protein 22 gén duplikációhoz társult autoimmun betegségek előfordultak-e egyéb, általuk vizsgált vizsgált CMT1 típusú polyneuropathiákban, vagy csak a közölt család sajátossága volt?**

A **megbeszélés** alapos tárgyi és irodalmi tájékozottságot tükröz. Az eredményeket olyan mértékben értelmezi, hogy alig marad alkalom kérdések feltevésére. A klinikusok számára az adatokon túl a betegségek diagnosztikai megközelítésére kapott tanácsok a leghasznosabbak.

A jelölt teljesítette a disszertációban megadott célkitűzéseket. Hozzájárult a neuromuskuláris betegségek hátterében álló genomikai rendellenességek megismeréséhez, leírta a genomikai eltérések hatását a fenotípusra, Duchenne izomdystrophiában a plasmid mediált géntransfer human alkalmazására előkészületeket tett.

Az általam legfontosabbnak vélt tudományos eredmények:

Új mutációkat talált a mitochondriális betegségekben.

Állatkísérletben a preimplantációs diagnosztika alkalmazhatóságát mutatta be mitochondriális DNS pontmutációk öröklődésének az elkerülésére.

Új mutációkat írt le az öröklött neuropathiákban

Felvetette a mitochondriális betegségekben, az öröklött perifériás neuropathiákban a másodlagosan zajló gyulladásos folyamat addicionális hatását.

A jelölt munkájának hazai jelentősége:

Behozta a magyar neuro-pszichiátriai gondolkodásba a genetikai megközelítés fontosságát, a molekuláris biológiai értelmezést a betegségek pathomechanizmusának a kutatásába és a potenciális therápiák kifejlesztésébe.

Nemzetközi szinten dolgozó és eredményeket elérő laboratóriumot hozott létre, tart fenn, munkacsoportot alakított ki, mely országos igényeket is kiszolgál, számos kooperációs partnerrel dolgozik.

Valamennyiünk számára emelte a Magyarországon gyakorolható neurológiai munka színvonalát, értékét a számos módszer hazai adaptálásával, ill. kifejlesztésével.

A disszertáció hiteles adatokat tartalmaz, jelentős eredményekkel gyarapította tudományszakot, hozzájárult annak továbbfejlődéséhez, így a nyilvános vita kitűzését, a munka elfogadását javasolom a Magyar Tudományos Akadémia Doktori Tanácsának.

Dr. Engelhardt József

egyetemi tanár

Szegedi Tudományegyetem Neurológiai Klinika

2010-12-13.