

MTA Doktori Értekezés Bírálata:

A pályázatot benyújtotta: Dr. Balogh István, Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék

A pályázatot bírálta: Dr. Miseta Attila, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet

A pályázat címe: Klinikai laboratóriumi genetikai és molekuláris biológiai vizsgálatok súlyos monogénes betegségeken és multifaktoriális kórképekben.

A pályázat szerkezete: A teljes terjedelem 228 oldal mely a klasszikus tagolásban előszót, tartalomjegyzéket és a rövidítések jegyzékét követően 55 oldalnyi bevezetést, a célkitűzések rövid leírását, 36 oldalon leírt módszertant tartalmaz. Eredményeit 73 oldal terjedelemben ismerteti és értékeli. Ezt követi az új megállapítások összefoglalása, a köszönetnyilvánítás és a referenciák jegyzéke. Végül a tudományometriai adatok ismertetése zárja az értekezést.

A bevezetés: A bevezetésben a jelölt ismerteti azt a tudásanyagot, ami kutatásainak a megértéséhez szükséges. Sorban leírja a véralvadás V. faktorának öröklött hiányával kapcsolatos ismereteket, a C típusú Niemann-Pick féle betegséggel, a neunatális diabetes mellitussal, a MODY-val (maturity onset diabetes mellitussal) a hipoglikémiás hiperinsulinizmussal (HH) kapcsolatos ismereteket. Kitér a saját a diagnosztikus módszertannal kapcsolatos fejlesztésekre is. Ezeket követően a cisztás fibrózissal, a Smith-Lemli-Opitz szindrómával, a policisztás vesebetegségek öröklött formáival, a Marfan szindrómával kapcsolatos ismereteket és saját diagnosztikus erőfeszítéseket mutatja be. Végül kitér a multifaktoriális betegségekre néhány példán keresztül.

Célkitűzéseiben egyes monogénes betegségek genetikai okainak a feltárását, a kezeléssel kapcsolatos döntéshozatali folyamat támogatását, a monogénes betegségek mutáció spektrumának a hazai feltárását, a multifaktoriális betegségek populációs szintű vizsgálatát (Gas6, makula degeneráció, férfi infertilitás), valamint a genetikai diagnosztikai gyakorlatban hazánkban működő eljárások fejlesztését jelöli meg.

A betegek, anyagok és módszerek részben gondos leírást találunk a vizsgálatokra bevont betegekről, valamint a kutatási módszertanról is.

Eredmények és megbeszélés:

A jelölt súlyos V faktor deficiencia esetét mutatja be, amit két kereteltolódással járó mutáció okoz. A heterozigóta anyában és ugyancsak heterozigóta apában detektálható volt a két mutáció, melyek szerencsétlen kombinációja okozta azt, hogy a beteg súlyos tüneteket mutatott. Ugyanakkor az étellel elvileg összeegyeztethetetlen kondíció magyarázatául a trunkált fehérjék bizonyos szintű expresszióját és aktivitását valószínűsíti.

A *HNF4A*-*MODY* első (kettő) hazai felderített esete kapcsán ismert misszensz mutáció detektált, ami a korábbi hatástalan inzulin terápia helyett szulfonilureás terápia váltáshoz vezetett jó eredménnyel.

De novo ABCC8 mutációt igazolt egy betegben aki hiperinzulinizmusban szenvedett. A kórkép okaként egy heterozigóta intron mutációt valószínűsít. A beteg hatékony kezelése vált lehetővé a szomatostatina agonista octreoid terápia kapcsán.

Terhesség alatti mutáció specifikus kezelés diabéteszben: A *KCNJ11* gén mutációját hordozó anya gyermek viszonylatban fontos kideríteni, hogy a mutációt hordozó anya mellett a gyermek is hordozza-e a mutációt. A szulfonilurea kezelés hatása akár káros is lehet a magzatra, amennyiben az nem hordozza a mutációt, hiszen az anyától eltérően fog reagálni a kezelésre, melynek eredménye neonatális hiperinzulinémia, és következményes alacsony vér glukóz szint.

Misszensz mutáció disztrofinopátiában: egy új hemizigóta variánst ír le, mely más már ismert hemizigóta mutációk mellett foglal helyet a *DMD* génben. Ez a szerző szerint Becker típusú izomdisztrófiát eredményez. Felhívja a figyelmet arra is, hogy az *MLPA* teszt fals pozitív eredményt adott, melyet szekvenálással igazoltak.

Kezelést megalapozó genetikai tesztelés Niemann-Pick betegségben: Fiatal pszichotikus beteg genetikai háttérelmzése adott támpontot miglustat kezeléshez, mellyel a beteg állapota és életminősége javult.

Az anyai sejt kontamináció hatása molekuláris biológiai tesztekre invazív mintavételt követelő prenatális diagnosztika során. A Sanger az *MLPA* és piroszekvenáláson alapuló módszertanok érzékenységét vizsgálták arteficiálisan kontaminált mintákon. Az eredmények jelentősen hozzájárulnak ahhoz, hogy az egyes módszertanok eredményeit megfelelően értékelhessük.

A piroszekvenáláson alapuló DNS szekvenálás analitikai paramétereinek a vizsgálata. Ez a szekvenálási technika elsősorban rövidebb DNS szakaszok vizsgálatára alkalmas, ami az irodalmi adatoknak megfelelő adat. Ugyanakkor néhány konkrét példán demonstrálja a jó laboratóriumi gyakorlathoz illő alkalmazásokat. Kitér arra, hogy milyen esetekben szükségesek kiegészítő vizsgálatok.

Cisztás fibrózis betegséghez kapcsolódó mutációk kelet Magyarországon. A *CFTR* gén különböző mutációinak a populációs szintű katasztere jobb eligazodást eredményez abban a tekintetben, hogy milyen kezelési protokollok eredményes alkalmazása várható.

A Smith-Lemli-Opitz szindrómában szenvedő betegek körében értékes kutatómunkát végzett egyrészt a hazai mutáció típusok előfordulása, másrészt a biomarkerek és a betegség súlyossága összefüggésének tekintetében. A mutációk következtében a 7-DHC koleszterin szint emelkedik, mivel a *DHCR7* gén defektusai eltérő mértékű enzim aktivitás csökkenést

okoznak, a reziduális aktivitás viszont bizonyos mértékig stimulálható (vagy gátolható), ami a gyógyszeres kezelés egyik alapja lehet. Ugyanígy azonban egyes gyógyszerek káros hatást is kifejthetnek. A jelölt jelentős in vitro vizsgálatokat is végzett kismolekulású anyagok hatásainak a vizsgálatára.

Autoszomális recesszív policisztás vesebetegségek valamint a Marfan betegség tekintetében kohorsz vizsgálatokat végzett, melyek a betegségek pontos diagnózisában a lehetséges következmények kezelésében és a genetikai tanácsadásban, családtervezésben értékes adatokat szolgáltatottak.

A Gas6 fehérjék jelenlétét vizsgálta trombocitákban és a plazmában is. Megállapította, hogy a fehérje nincsen élettanilag releváns mennyiségben jelen a vérlemezkékben, a vérlemezkékre kifejtett hatás a plazma Gas6 szintnek tudható be.

Nagy volumenű kutatásokat végzett az időskori makula degenerációval kapcsolatban. Túl a genotípus vizsgálatokon, melyek arra utalnak, hogy *CFH* és *LOC387715/HTRA1* polimorfizmusok jelentős kockázati tényezők, a Gas6 c.834+7G>A polimorfizmust vizsgálta. Valószínűsítette, hogy a Gas6 negatív angiogenetikus hatása szerepet játszhat a nedves típusú AMD kialakulásában.

Értekezésének a befejező részében a férfi infertilitás vizsgálatokkal kapcsolatos vizsgálatait mutatja be. Ezek részben a mikro RNS-ekre részben pedig az Y kromoszóma mikrodeléciókra vonatkoznak. Bemutatja, hogy miRNS-ek szintjei a spermiumokban és az ondó folyadékban eltérőek lehetnek a normál és spermatogenezis problémákkal küzdő férfiakban.

A szerző „Új Megállapítások” oldalakon felsorolt eredményeit elismerem.

A szerző mintaszerűen összeállított munkájában apróbb formai hibákon kívül más alaki problémát felfedeznem nem sikerült. Minden esetben felsorolja azokat a munkatársakat is, akik az adott bemutatott munkához kapcsolódóan érdemi tevékenységet fejtettek ki.

Az értekezéssel kapcsolatban az alábbi kérdéseket teszem fel.

Az FV antigén kimutatásával kapcsolatban: nem lehetséges-e, hogy a reziduális aktivitás, 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 HNF4A-MODY esetében mennyire volt kiterjedt a rokonok vizsgálata?

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

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 .

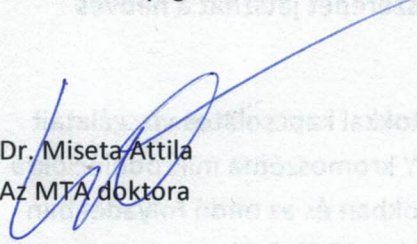
2014;15:371-94.) maga a megfigyelés elég régi (több mint 20 éves). Időközben kevésbé toxikus analógokon is dolgoztak. Nem lenne-e érdemes a hazai orvos közönség elé tárni ezeket a megfigyeléseket?

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

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

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 jelölt tudományos munkájának a színvonala és volumene megfelel a Magyar Tudományos Akadémia MTA doktori tézisekkel kapcsolatos követelményeinek. Annak vitára bocsájtását a feltett, a munka lényegét nem érintő kérdések megválaszolása után javaslom.


Dr. Miseta Attila
Az MTA doktora

Pécs, 2020. december 5.