

mhgt



MAGYAR
HUMÁNGENETIKAI
TÁRSASÁG

SZÓBELI ELŐADÁSOK

Klinikai genetika. A tudományág evolúciója

Kosztolányi György

Pécsi Tudományegyetem, Pécs

Az előadás azt a tudományos tevékenységet járja körül, amit a genetika mint biológiai törzstudományon belül klinikai jelzővel különítünk el. Olyan kritériumok kerülnek elemzésre, amelyek egy tudományág önállóságának, egyéb területektől való különbözőségének feltételei. Hat szempont elemzése alapján az előadás arra a következtetésre jut, hogy a klinikai genetika kétségen kívül önálló tudományágnak tekinthető. Továbbmenve: a klinikai genetika túlterjed az orvosi diagnosztikai tevékenység körén. Több tudományág paralel fejlődése során a tudományágak egymásra épülésével, egy kvázi evolúciós folyamatban, a klinikai genetika *transzdiszciplináris gondolkörré* alakult.

From rare diseases to Public Health Genomics

Genetika és pathomechanizmus: úton a terápiához

Borut Peterlin

University Medical Center Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Mitochondriális medicina: Új eljárások a mitochondriális betegségek diagnózisában és terápiájában

Horváth Rita

Department of Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom

A mitochondriális betegségek klinikailag és genetikailag nagyon heterogén betegségek, amiket a mitochondriális DNS mutációin kívül kb. 350 nukleáris gén defektusa okozhat. Gyakori klinikai tünetek lehetnek ptosis, ophthalmoparesis, izomgyengeség, epilepszia és egyéb központi idegrendszeri zavar, de cardiomyopathia, májelégtelenség és endokrin tünetek is gyakran előfordulhatnak. Bár a betegség háttere az esetek többségében a mitochondriális légzési lánc működésének defektusa, továbbra sem ismert, hogy miért egyes szövetek és sejttípusok érintettek jobban.

A mitochondriális betegségek diagnosztikája hatalmas változáson ment át az utóbbi években, a Next Generation Szekvenálás korában. Míg korábban a legtöbb beteg izombiopszián esett át, ami megerősítette a diagnózist és segített behatárolni a lehetséges kórokozó gének számát, az utóbbi években azonban whole exome és genome szekvenálás az első diagnosztikus teszt. Izombiopsziára csak ritka esetekben kerül sor, hogy a detektált genetikai variánsok kórokozó szerepét megerősítsük.

Míg a betegek nagy részében megtaláljuk a genetikai diagnózist, a terápiás lehetőségek továbbra is nagyon korlátozottak. Az előadás összefoglalja a mitochondriális betegségek új diagnosztikus és terápiás lehetőségeit és megpróbál néhány praktikus tanáccsal szolgálni a klinikusoknak és genetikusoknak.

Sokszinűség a DNS-ben

Vértessy G. Beáta

Enzimológiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Magyar Kutatási Hálózat és BME ABÉT, Budapest

Melyek a DNS-t alkotó nukleobázisok? A tankönyvek szerint négy ilyen van: adenin, timin, guanin és citozin (A, T, G, C kanonikus DNS-bázisok). A DNS-szekvenálási eljárások is ezt támasztják alá. Ezen technológiák széles tárháza és egyre csökkenő költsége mára a személyre szabott diagnosztika és terápia elérhető és lényegi eszközévé tette a teljes genomszekvenálást. Az így nyert információtömeg jelentőségét a gyógyításban és az életminőség javításában hűen tükrözik a molekuláris mechanizmusok alapján tervezett sikeres terápiák több betegségcsoportban is. Fontos azonban tudatosítani, hogy mi is az az információ, amit a szekvenálásból nyerünk, és mi az, ami rejtve marad. A gyakorlatban széles körben használt genomszekvenálási eljárások kizárólag a négy kanonikus bázis (A, T, G, C) kontextusában adják meg a DNS szekvenciát, jóllehet ezen korlátoltság érvényessége már több évtizede megkérdőjeleződött. A 5-metil-citozin, mint egy ötödik bázis, a DNS-ben régóta polgárjogot nyert és ismerjük ezen "új" nukleobázis fontos szabályozó szerepét a génkifejeződésben. Az utóbbi években egyre több módosított ún. nem-kanonikus nukleobázis DNS-beli funkcionális szerepét fedezték fel, ezek közé tartoznak például az uracil, az 5-hidroximetil-citozin, az 5-formil-citozin, a 8-oxo-guanin, az N-6-metil-adenin, stb. Mindezen bázisok rejtve maradnak a szokásos szekvenálásokban, helyettük timint, citozint, guanint, adenint olvas be a rendszer. Nyilvánvaló, hogy az élő szervezet tervrajzának szerepét betöltő DNS hamis értelmezése súlyos információhiányhoz vezet.

A nem-kanonikus bázisok közül az uracil DNS-beli megjelenése és az így indukált hibajavítási és jelátviteli útvonalak számos élettani és kórélettani folyamatokban lényegi jelentőséggel bírnak, ahogy ezt kutatásaink és mások eredményei egybehangzóan mutatják. A közelmúltban több olyan eljárást fejlesztettünk ki, melyek feltárják az uracil genomon belüli eloszlását és ennek dinamikáját. Kimutattuk az APOBEC citidin-dezamináz enzimsalád egyes képviselőinek specifikus szerepét az uracil DNS-en belüli létrehozásában, ami tumorigenezishez és a kemoterápiával szembeni rezisztenciához vezet.

Ref.: Róna et al, Nucleic Acids Res. 2016, 18;44(3):e28, Pálinkás et al, eLife 2020, 9:e60498.

Az onkogenetika hazai mérföldkövei

Oláh Edit

Országos Onkológiai Intézet, Molekuláris Genetikai Osztály, Budapest

Az onkocitogenetika korai sikerei, a híres daganatos családok leírása ellenére a genetikai tényezőknek hosszú ideig nem tulajdonítottak nagy jelentőséget a daganatos betegségek kialakulásában. A daganatképződés genetikai hátterét igazoló jelentősebb felfedezések a XX. század második felében, de leginkább az ezredfordulón születtek, amikor általánosan elfogadottá vált a daganatképződés genetikai paradigmája. Eszerint a rák lényegét tekintve genetikai betegség, amely a génműködést megváltoztató genetikai és epigenetikai változások sorozata után vezet a betegség kialakulásához. Az előadás az onkogenetika nemzetközi eseményei tükrében – szubjektív visszatekintés formájában – mutatja be a hazai onkogenetika közel hat évtizedét az onkocitogenetika korai szakaszától kezdődően. Bemutatásra kerül hogyan indultak el a molekuláris onkogenetikai kutatások Magyarországon (az onkogének és tumorsuppresszor gének tanulmányozásával), az OOI Molekuláris Genetikai Osztályán a 80-as évektől kezdődően. Áttekintjük a genom/poszt-genom korszak három évtizedét, ami a rákgenom és a germline genom egyre pontosabb megismerését eredményezte. Kiemelten foglalkozunk a munkacsoportunk 25 éve megkezdett, a daganatos betegség/hajlam/genetikai fogékonyság (rizikógének) azonosítására irányuló kutatásaival, amelyek okolhatók a familiáris halmozódást mutató örökletes daganatok kialakulásáért (pl. BRCA1/BRCA2 gének vagy a munkacsoportunk által felfedezett EPCAM/TACSTD1 rizikógén). Ezek eredményeképpen bevezetett rákhajlamdiagnosztika az orvostudomány egyik sikertörténete, ami elősegíti az egyéni rákkockázat felmérését, a korai felismerést, a kockázat csökkentését és az egyénre szabott terápia megválasztását. Az utóbbi tíz évben a daganatok genetikai hátterének megismerésében továbbra is robbanásszerű fejlődés szemtanúi voltunk/vagyunk. A rákkutatás és a rákhajlamkutatás is bővelkedik fontos mérföldkövet jelentő felfedezésekben és új technológiai megközelítésekben (pl. NGS, GWAS), amelyek transzformáló hatása az onkológia minden területét érintik.

A Beckwith – Wiedemann spektrum korszerű gyakorlati szemlélete

Fekete György, Lengyel Anna, Pinti Éva, Kovács Árpád Ferenc

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

A Beckwith-Wiedemann-szindróma a leggyakoribb epigenetikai, túlnövekedési és fokozott daganat keletkezési kockázattal járó tünetegyüttes. A kórképet J. Bruce Beckwith angol patológus 1963-ban, illetve Hans-Rudolf Wiedemann német gyermekorvos 1964-ben írta le.

Az eredeti klinikai tünetek listája azóta jelentősen bővült, így ma már nem szindrómáról, hanem spektrum betegségről beszélünk. Előadásunk célja, hogy e fontos csecsemő – gyermekgyógyászati kórkép példájával szemléltessük az elmúlt 60 év klinikai és genetikai diagnosztikájának és a betegek gyakorlati ellátásának jelentős szemléleti változásait, fejlődését.

Klinikailag 3 csoportba sorolhatók a betegek: klasszikus forma, izolált egyoldali (lateralizált) túlnövekedés, az előző kettőbe nem illeszhető atípusos forma. A tünetek alapján a betegeket klinikai pontrendszerrel jellemezhetjük, amelyben a fő jellegzetességek 2 pontot, a többi klinikai eltérés 1 – 1 pontot ér. Klinikai diagnózis 4 pont vagy magasabb érték esetén mondható ki, 2 vagy több pont megerősítő molekuláris genetikai diagnosztikai vizsgálat javallatát jelenti.

A 11p15 régió molekuláris hibái a következők lehetnek: a./ hipometiláció a KCNQ1OT1:TSS DMR imprinting kontroll régiójában (IC2 LOM), b./ a 11-es kromoszóma apai uniparentális diszómia (pUPD11) , c./ az IC1 imprinting kontroll régió hipermetilációja, amely az IGF2 overexpresszióját okozza [H19/IGF2:IG DMR (IC1 GOM)], és d./ a CDKN1C gén mutációi. Kimutatták, hogy az IC2 LOM eltérést mutató betegeknél gyakoribbak az omphalocoele, a fül redői és bőrfüggelékei, facialis naevus simplex tünetek, míg ritkább a daganatok előfordulása az IC1 GOM és pUPD11 molekuláris diagnózissal betegekhez képest. A lateralizált túlnövekedés leggyakrabban a pUPD11 molekuláris diagnózissal társul. A pontos klinikai vizsgálat, valamint a végtagok körfogatának és hosszának mérése fontos: a lateralizált túlnövekedés definíció szerint az egyik oldal valamelyik, vagy több végtagján mérhető, több, mint 5%- os különbség.

Röviden bemutatjuk a BWS spektrum betegséggel diagnosztizált betegeink között előfordult Wilms-tumor, hepatoblastoma, rhabdomyosarcoma és leukaemia eseteinket és a rendszeres daganatszűrés klinikai gyakorlatát.

Mesterséges intelligencia az egészségbiológiai univerzumban

Falus András

Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológia Intézet, Budapest

Korunk egyik kiemelkedően fontos szellemi és technológiai előrelépése a mesterséges intelligenciák (MI) megjelenése gyakorlatilag minden tudományágban, sőt a chatGPT és hasonló szoftverek révén a civil társadalom is megismerkedhetett a korábban misztifikált MI-vel.

Az MI olyan önkorrekcióra, önfejlesztésre képes számítástechnikai rendszer amely hatalmas adatbázisokkal áll folyamatos kapcsolatban, nagy sebességgel komplex működéseket képes modellezni és optimalizálni.

Az MI szuperszámítógép hálózatai mesterséges, egymással kapcsolt (neurális) rétegeket tartalmaznak, amelyek kapcsolatrendszerei és szűrőrendszerei gyakorta csak „black boxként” értelmezhető mechanizmusokkal végzik működésüket.

Különösen radikális a fejlődés a közvélemény által is pozitívan értékelt medicínális feladatok megoldásában, ennek keretében a telemedicina is egyre inkább előtérbe kerül. A diagnosztika, a precíziós medicina és a robotsebészet mellett a nanobotok, bioszenzorok, gyógyszer, biomarker és védőoltás-tervezés területen tapasztalható hatalmas fejlődés.

Az előadás bemutatja az MI-val történő antigenikus peptid optimalizálás elveit, eddigi sikereit valamint ma még alig belátható perspektíváját a személyre szabott tumor ellenes vakcinatervezés területén.

Az erdélyi székelyek alpopuláció-szintű vizsgálata nagy felbontású autoszomális marker adatok alkalmazásával

Bánfai Zsolt^{1,2}, Ádám Valerián¹, Sümegi Katalin^{1,2,3}, Szabó András^{1,2}, Büki Gergely^{1,2}, Magyar Lili^{1,2}, Hadzsiev Kinga^{1,2}, Kásler Miklós⁴, **Melegh Béla**^{1,2}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

² Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

³ Pécsi Tudományegyetem, Orvostudományi Kar, Biokémiai és Orvosi Kémiai Tanszék, Pécs

⁴ Országos Onkológiai Intézet, Budapest

A székelyek egy legnagyobb számban Erdélyben élő, magyarul beszélő, magyar származású katolikus népcsoport. Az erdélyi jelenlétüket megerősítő legkorábbi hivatalos dokumentumok a 12. századra datálhatók. Pontos eredetük, populációtörténetük máig ismeretlen, populáción belüli szerkezetük feltárása céljából genetikai, genomikai vizsgálatok elvégzésére eddig nem került sor.

Jelen tanulmány célja Erdély különböző területeiről származó székely szubpopulációk vizsgálatának révén genetikai felépítésük, eredetük feltárásának megalapozása. A tanulmányban Erdély 10 különböző régiójából származó 319 székely mintát elemeztünk. A mintaadók önbevallásuk alapján legalább 3 generációra visszamenőleg nem keveredtek más népcsoportokkal. Illumina Infinium GSA v3.0 720K microarray genotípus adatokat felhasználva allélfrekvencia és haplotípus alapú vizsgálatokat végeztünk, mint például a főkomponens-analízis (PCA), a maximális valószínűség becslésen (MLE) alapuló leszármazás analízis, és a különböző DNS szakasz vizsgálati módszerek, a leszármazás- és a homozigócia miatt azonos DNS szakaszok (IBD és HBD) vizsgálata.

Eredményeink azt mutatják, hogy az erdélyi székelyek különböző alpopulációiban a hipotetikus közös őstket modellező klaszterekből való részesedés nagyon hasonló. Ezt mind az allélfrekvencia alapú vizsgálatok, mind a leszármazás végett azonos szegmensek vizsgálata megerősítette. Allélfrekvencia alapú vizsgálataink azonban jelezték, hogy Szentegyháza és Szováta környékén több egyén is szignifikánsan nagyobb részesedést mutat a kelet-európaiakkal közös klaszterekből. A Szentegyháza környéki alpopulációk egyediségét a homozigócia végett azonos DNS szakaszok elemzése is kimutatta, a Szentegyháza környékéről begyűjtött minták elemzése jelentősebb izolációt mutatott.

Vizsgálataink szerint az erdélyi székelyek a két említett terület kivételével meglehetősen homogének. A Kelet-Európával, Nyugat-Ázsiával összefüggésbe hozható klaszterekből e két terület lényegesen nagyobb arányt képvisel. Ezen alpopulációk lehetővé tehetik számunkra a székely nép eredetének további vizsgálatát, mivel eredményeink alapján két székely populáció máig jelentős leszármazást mutat a székelyek feltételezett őshazájául szolgáló területek populációival.

A kutatást lehetővé tévő pályázatok: NKFIH 138669.

Az ősök átka- genetikai eredetfüggő betegséghajlam

Raskó István
Szeged

Míg egyes monogénes betegségek esetén megállapítható a betegség eredete, a kialakításában és terjedésében szereplő szelekciós tényező, alapító hatás, vagy genetikai sodródás, a komplex betegségeknél a kevert populációk esetén sokkal nehezebb a patológiás állapotért felelős genotípus eredetének meghatározása. A patomechanizmusban résztvevő genotípus eredetének ismerete segíthet a személyre szabott gyógyításban. A modern archeogenetikai vizsgálatok egyre több, a Föld különböző pontjain élő populáció genetikai eredetét és migrációs útvonalát, valamint ősi keveredését tárták föl ezzel segítve a kérdés megválaszolását.

A klinikai genetika új perspektívái

Molnár Mária Judit

Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

A genomika az orvosi biológiában az egyik leggyorsabban fejlődő diszciplína. Az OMIM megalakításával McKusick megteremtette a modern klinikai genetika alapjait, ami ma már a genetikusan meghatározott monogén betegségek és kromoszóma rendellenességek diagnosztikáján jóval túlmutat. A diagnosztikában a monogén kórképek mellett az oligogén betegségek is egyre nagyobb szerepet kapnak. A polygén betegségeknél pedig a polygén rizikófaktoroknak köszönhetően a genetikai tesztek egyre pontosabb betegség predictiót biztosítanak. Bár a közvetlenül a fogyasztók által rendelhető tesztek klinikai hasznossága még sok esetben kérdéses. A predictio, a személyre szabott orvoslás egyik nagyon fontos pillére, így nem csoda, hogy az egészséges egyének nem csak a saját jövőbeli betegségeikre vonatkozó rizikóhajlamot szeretnék megismerni, hanem egyre több házaspár szeretné tudni korai embryonalis korban, hogy vajon születendő gyermekének milyen betegsége lesz. Mások az újszülöttkori szűrőprogramok által nyújtott korai kezeléseket szeretnék igénybe venni. De vannak olyanok is, akik nagyon tudatosan tervezik meg gyermekeik jövőjét és már a párválasztás előtt a reprodukív carrier szűrés szolgáltatását veszik igénybe annak érdekében, hogy nagy valószínűséggel egészséges gyermekeik szülessenek. Ha genetikai adottságaik alapján nagy a veszélye egy örökletes betegségnek a preimplantációs genetikai diagnosztikát veszik igénybe. De ha ezek a predictio tesztek mégsem lennének elérhetőek egyre több örökletes betegségben a molekuláris terápiák biztosítják számukra a jó életminőségben való életet. De ha nem lenne valaki beteg, akkor is találkozunk a genetikai predictióval, mert a pharmacogenetika számos gyógyszer hatásosságát és mellékhatását tudja megjósolni.

De vajon mindez elérhető ma mindenki számára? Minden jóslat valósággá válik. Nincsenek fölösleges aggodalmak, túlzott elvárások. Minden esetben könnyen értelmezhetőek genetikai variációink? Vajon mennyire tudjuk DNS molekulánkban megírt sorsunkat megváltoztatni. Mindez az, amiről a jövő genetikájának/genomikájának kutatásai szólnak. Az előadás a fenti gondolatokra keresi a választ és remélhetőleg a gondolatébresztő felvezetés során a konferencia lehetőséget biztosít a kérdések részletesebb diszkussziójára.

Teljes genom szekvenálás a humán betegségek genetikai hátterének azonosítására

Patócs Attila

Országos Onkológiai Intézet, Molekuláris Genetikai Osztály és Semmelweis Egyetem Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Budapest

Teljes genom szekvenálás (WGS, whole genom sequencing) technológiájának fejlődése lehető teszi ennek a jelenleg legátfogóbb módszernek a rohamos terjedését a molekuláris genetikai vizsgálatokat végző laboratóriumokban. WGS során a teljes genom vizsgálatára van lehetőség kompromisszumok nélkül és mind a rövid (egy nukleotid) mind pedig a hosszú, komplex eltérések vizsgálata során sikeresen alkalmazható. Természetesen a mindennapi klinikai munkába történő bevezetése során mindazoknak a paramétereknek az ismerete szükséges, amelyek minden diagnosztikai módszer esetén is elváltak.

Az előadás során áttekintésre kerül a módszer technikai megvalósítása során szükséges infrastruktúra, bioinformatikai, jogi és etikai kérdések, az Európai Unió Beyond 1 Million Genom iniciatíva javaslatai alapján. Saját eseteken keresztül demonstrálásra kerül a klinikai alkalmazhatósága betegség-okozó variánsok azonosítására. Mély intronikus, valamint promóter deléciókat érintő kóroki genetikai eltérések sikeres kimutatása segíthet a módszernek a diagnosztikai munkafolyamatokba történő beillesztésére. Kitérünk a referencia genomok kérdésére és a magyar genom program során megvalósítandó feladatokra is.

A computational genom interpretáció a predikciótól a klinikumig

Balogh István

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Genetikai Tanszék, Humánogenetikai Tanszék, Debrecen

A genetikai betegségben szenvedő beteg mintájában detektált variáns kórokiságának vizsgálata egyidős a genetikai diagnosztikával. Az új generációs DNS szekvenálási módszerek kifejlesztésével a kimutatott adatmennyiség jelentősen megnőtt, így a predikciós eszközök szerepe is felértékelődött. Az elmúlt évtizedekben számos predikciós eszközt fejlesztettek ki, legnagyobb részüket a misszensz mutációk vizsgálatára. Fő típusaik az evolúciós konzervativizmuson (homológ szekvenciák vizsgálatán) vagy a fehérje szerkezeteken alapulnak (a monogénes betegséget okozó variánsok 70-80%-ban érintik a kódoló fehérje stabilitását). A variánsok prioritizálásában elengedhetetlenek a gén központú variáns adatbázisok, mint a publikus ClinVar és az előfizetéses HGMD Professional. A genotípus-fenotípus összefüggések feltárásának elengedhetetlen eszközei a mutációs populációs adatbázisok, mint a gnomAD, hiszen a populációban gyakran előforduló variáns nem okozhat ritka genetikai betegséget. A genetikai fenotípusokat leíró források (OMIM) valamint a lókuszt-specifikus adatbázisok (LOVD) szintén részei a munkafolyamatnak. A teljes exom- és genomszekvenálások eredményeképp detektált nagy mennyiségű adat feldolgozása kihívásokkal teli. A ClinVar expert panelek által validált variánsainak száma mindössze 15.000, illetve szerkezeti adat a fehérjék csupán 30% -a esetén áll rendelkezésre, azaz a leggyakrabban kimutatott ismeretlen jelentőségű variánsok további klasszifikációja nem egyszerű feladat, többek között azért is, mert a predikciós eszközök széles tárházának használata nem standardizált. Végül, semmilyen predikció illetve adatbázis nem váltja ki a kísérletes munkát, azaz azokat a tesztrendszereket, melyek a genetikai variánsok biológiai következményeit vizsgálják.

A fenti eszközök kritikus használata segíti a klinikai és a klinikai laboratóriumi genetikust a genotípus-fenotípus összefüggések, a diagnózis felállításában.

Nem kódoló RNS-ek endokrin daganatokban: fókuszban a mellékvese

Igaz Péter

*Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati és Onkológiai Klinika,
Endokrinológiai Tanszék, Budapest*

A nem kódoló RNS-ek expressziójának változása a daganatok fontos jellemzője. A nem kódoló RNS-ek patogenetikai jelentőségük mellett hasznosak a diagnosztikában, a jó és rosszindulatú daganatok elkülönítésében. Ez különösen jelentős azon daganatok esetében, amelyek diagnózisa nehéz. E körbe tartoznak a mellékvese daganatai is. A mellékvesekéreg daganatok gyakoriak, és ezek döntő többsége jóindulatú, míg a mellékvesekéreg-carcinoma ritka, rossz prognózisú daganat. Munkacsoportom mind szöveti, mind keringő mikroRNS-ek kifejeződését vizsgálta jó- és rosszindulatú mellékvesekéreg daganatokban szenvedő betegekből és olyan mikroRNS-eket illetve mikroRNS kombinációkat találtunk, amelyek e daganatok hatékony elkülönítését tehetik lehetővé. Mesterséges intelligencia felhasználásával magas érzékenységű és specificitású szöveti mikroRNS marker kombinációkat sikerült azonosítanunk, amelyek a szövettani vizsgálat hatékony kiegészítői lehetnek. A keringő mikroRNS-ek minimálisan invazív markerként a preoperatív diagnosztikát, a daganatok követését és a terápiára adott válasz értékelését segíthetik. A további nem kódoló RNS-ek közül a cirkuláris RNS-eket is vizsgáltuk. Előadásomban elsősorban a mikroRNS-ek alkalmazhatóságát mutatom be.

***In vitro* funkcionális vizsgálatok jelentősége a ritka betegségek pathogenezisének megismerésében és személyre szabott kezelésben**

Széll Márta^{1,2}

¹ Orvosi Genetikai Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

² ELKH-SZTE Klinikai Funkcionális Genetika Kutatócsoport, Szeged

A ritka betegségek egyre gyorsabb ütemben fejlődő terápiás lehetőségeit mélyreható *in vitro* és *in vivo* funkcionális vizsgálatok alapozták meg. A kóroki mutációk által módosított jelátviteli utak, sejtfunkciók azonosítása elengedhetetlen a személyre szabott és mutáció specifikus kezelések kidolgozásához. Erre a legjobb példa a ritka betegségek körében a cisztás fibrózis kezelésére fejlesztett terápiák köre. Kutatócsoportunk egy ritka bőrgyógyászati kórképben, a CYLD cutan szindrómában (CCS) végez *in vitro* funkcionális vizsgálatokat. A CCS-t többszörös, változó mértékű bőr függeléktumok kialakulása jellemzi. A CCS a deubikvitináz enzimet kódoló cylindromatosis (CYLD) tumorszuppresszor gén csírvonalbeli patogén variánsai okozzák, a kódolt CYLD fehérje eddigi ismereteink szerint elsősorban az NF- κ B jelátviteli útvonal negatív szabályozását végzi. A CYLD gén nonszensz mutációi a betegség nagy fenotípusos változatosságához vezetnek. A CYLD fehérje három csonka patogén variánsának - a korábban nem ismert CYLD(Tyr602X) és a rekurrens CYLD(Arg758X) és CYLD(Arg936X) variánsok - molekuláris és celluláris következményeinek tisztázása érdekében *in silico* és *in vitro* funkcionális elemzéseket végeztünk szerkezetük, stabilitásuk és jelátviteli tulajdonságaik összehasonlítására. Vizsgálataink eredményei szerint a csonkolások specifikus különbségeket okoznak a kódolt CYLD fehérje stabilitásában. A legrövidebb CYLD(Tyr602X) fehérje halmozódik fel a legnagyobb mértékben a sejtekben és különösen stabil. Ezzel szemben a CYLD(Arg758X) fehérje rendkívül instabilnak bizonyult. A szerkezeti elemzések a csonka származékok eltérő konformációs tulajdonságait mutatták ki, ami feltehetően a NEMO-kötő domén megváltozott hozzáférhetőségét eredményezi. Jelentősen fokozott NF- κ B jelátvitelt csak a CYLD(Arg936X) variáns esetében figyeltünk meg, míg a nagyobb csonkolásokkal rendelkező CYLD fehérjék alacsony szintű NF- κ B aktivációt eredményeztek. Eredményeink arra utalnak, hogy a CYLD fehérje különböző mutáns változatai különböző sejtes útvonalakat befolyásolhatnak, így a CCS-hez való patogén hozzájárulásukban is különbözhetnek. Reményeink szerint vizsgálatainkkal hozzájárulunk ahhoz, hogy ebben az életminőséget nagymértékben lerontó örökletes bőrgyógyászati kórképben a jövőben hatékony mutáció specifikus terápiás eljárások kerüljenek kidolgozásra.

Komplement mediált betegségek: a kivizsgálás és a célzott terápiás lehetőségek áttekintése

Prohászka Zoltán

Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, Kutatólaboratórium, Budapest

A komplement a veleszületett immunitás szorosan szabályozott enzim-kaszád rendszere, amelynek alapvető feladata az opszonizáció és fagocitózis elősegítése által az adaptív immunválasz bekapcsolása. Az idegen és a veszélyes saját struktúrák felszínét felismerve és megjelölve egy önmagát erősítő aktivációs folyamat indul el, amely akár a target líziséhez is vezethet. A rendszer több ponton, redundáns módon szabályozott, és sok hasonlóságot mutat más plazma enzimrendszerek működésével.

Az elmúlt évek kutatásainak köszönhetően egyre több betegségről igazolódik, hogy alapvetően fontos szerepet játszik a patogenezisükben a komplementrendszer. A legfontosabb ilyen állapotok a regulátor hiányok (pl. C1-inhibitor hiány esetén fellépő angioödéma, alternatív-út regulátor hiányállapotokban atípusos hemolitikus urémiás szindróma), komplement faktor deficienciák (pl. klasszikus út hiányállapot esetén SLE, míg terminális út hiányállapotnál meningococcus fertőzés jellemző), míg a komplement komponenseket célzó autoantitestek szerzett komplementhiányhoz vezethetnek (pl. anti-C1q, vagy C3-nefritikus faktor). A legtöbb ismert komplement mediált betegség esetén megállapítható az a csírvonalban kódolt ritka- vagy gyakori variáció, amely okozati, vagy rizikó fokoz hatással bír az adott kórképben.

Tekintettel arra, hogy többféle terápiás lehetőség is van a fenti betegségek kezelésére, az utóbbi időben felértékelődött a precíz komplement diagnosztika beleértve a genetikai analízist is. A legtöbb esetben lehetőség van az adott beteg klinikai állapotának, komplement eltéréseinek és predisponáló tényezőinek figyelembe vételével rövid- és hosszú távú, célzott, személyre szabott kezelési terv készítésének. Előadásomban illusztratív betegtörténetek bemutatásával szeretném áttekinteni a kivizsgálás logikáját és lehetőségeit, egyben összefoglalást szeretnék adni a ma elérhető komplementgátló kezelésekről valamint a fejlesztési irányokról.

Inkomplett penetrancia: a monogénes betegségek reménye és réme

Tory Kálmán

Semmelweis Egyetem, Gyermekklinika, Budapest

MTA-SE Lendület Nephrogenetikai Kutatócsoport, Budapest

A genetikai tanácsadás során fontos a betegség penetranciájának az ismerete. A penetrancia azonban számos tényező: a szervi érintettség, a kóroki gén és variáns függvénye. Ugyanazon gén más-más variánsa más penetranciát, és akár más öröklésmenetet is eredményezhet. Domináns vagy X-hez kötött betegségekben a variáns generációkon át való öröklődése, a kockázatnak kitett családtagok nagy száma miatt hamar felismerésre kerülhet az inkomplett penetrancia. Autoszomális recesszív (AR) betegségekben azonban ennek megítélése különös kihívást jelent. Részben, mert ezen teljes vagy közel teljes funkcióvesztéssel járó betegségekben az inkomplett penetrancia ritka, részben, mert a testvérekre szorító érintettség lehetősége miatt a kockázatnak kitett családtagok száma alacsony, így családok vizsgálata által való felismerésük nehéz. Ennek megfelelően, az AR betegségek döntő részében nem is számolunk ennek lehetőségével. Létezésére egyes patogén variánsok magas átlagpopulációs allélfrekvenciája hívhatja fel a figyelmet. Az átlag- és a betegpopulációban való relatív allélfrekvencia összehasonlításával lehetőség van az inkomplett penetráns variánsok azonosítására és penetranciájuk meghatározására AR betegségekben is. A teljes funkcióvesztést okozó variánsok ugyanis jellemzően teljesen penetránsak. Ezen variánsokhoz hasonlítva az egyes variánsok betegség átlagpopulációs allélfrekvenciáját megtalálhatóak azon, jellemzően hypomorph variánsok, melyek a vártnál szignifikánsan ritkábban fordulnak elő a betegpopulációban, azaz inkomplett penetránsak, és a csökkenés mértéke alapján számolható a penetranciájuk. Ezen módszerrel, korábbi populációgenetikai vizsgálatunk során több olyan betegségben azonosítottunk inkomplett penetráns variánsokat, melyekben korábban nem számoltunk ennek lehetőségével.

Több oligogénes betegség alapján ismert, hogy a penetrancia akár nagyságrendnyi különbséget is mutathat annak függvényében, hogy érintett családok vagy az átlagpopuláció vizsgálata révén határozzuk meg a nagyságát. Az általános penetranciánál ezért lényegesen nagyobb lehet a betegség ismétlődésének a valószínűsége egy érintett gyermek testvérében, mert ezen családokban a penetranciát meghatározó más rizikófaktor is jelen van. Fontos ezért, hogy a penetranciát az annak meghatározása során alkalmazott helyzetre értelmezzük.

Az inkomplett penetrancia, ami az érintett családok számára reményt adhat, a tanácsadást végzőnek komoly kihívást jelent. Az inkomplett penetrancia hátterében lévő mechanizmusok megértése, így a penetrancia családspecifikus számolása még további munkát kíván.

A feltáratlan mozaikosság

Hadzsiev Kinga

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézet,
Pécs*

A mozaikosság – amikor egy egyedben egyetlen zigótából származó, genetikailag különböző, normális és abnormális sejtek jelenléte igazolható – régóta ismert és vizsgált jelenség, Judit Hall már 1988-ban a phenotypusos variabilitás fontos okaként valószínűsítette. Detektálásban mind a vizsgált biológiai minta, mind a vizsgáló módszer szerep nagyon fontos. Az emberi szervezetben a mozaik állapotok előfordulása még napjainkban is alábecsült, mivel ezek, különösen alacsony arányú mozaikosság esetén, feltáratlanok maradnak. Az új-generációs szekvenálási technológiák ígéretes módszertani megoldást jelentenek a mozaikfelismerésben az elkövetkező években. Ezért, valamint amiatt, mert a mozaikosság ténye mind a klinikai diagnózis felállítását, mind az ezzel kapcsolatos genetikai tanácsadást bonyolíthatja fontos, hogy genetikai betegellátásban dolgozó szakemberek naprakész tudással rendelkezzenek ezen a területen is. Előadásomban a kapcsolatos releváns irodalom áttekintéséről, valamint saját betegeink ellátása során nyert tapasztalatainkról számolok be.

A citogenetika szerepe az infertilitás diagnosztikájában

Ujfalusi Anikó, Andó Szilvia, Bessenyei Beáta, Koczok Katalin, Balogh István
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen

Infertilitás esetén 12 hónap rendszeres és fogamzásgátlástól mentes szexuális élet ellenére sem következik be terhesség. Ez az állapot a fejlett nyugati országokban a fertilis párok 10-15%-át érinti. A kromoszóma eltérések az elsőként felismert genetikai okai a meddőségnek, melyek közül a nemi kromoszómákat érintő számbeli kromoszómaaberrációk a leggyakoribbak. Az autoszómák közötti kiegyensúlyozott transzlokáció hordozás gyakori genetikai oka a visszatérő vetéléseknek. A transzlokáció hordozó szülők fenotípusa normál, ivarsejtképzésük során azonban kiegyensúlyozatlan kromoszómakészletű petesejtek/spermiumok keletkezhetnek, melyek életképtelen magzatok vetéléséhez vagy többszervi eltéréseket mutató gyermek születéséhez vezethetnek. A 9-es kromoszóma pericentrikus inverziója az egyik legtöbbször vizsgált szerkezeti kromoszómaaberráció infertilitásban. Egymásnak ellentmondó adatokat közöltek az inv(9) előfordulási gyakoriságáról és patogenetikai szerepéről reprodukciós sikertelenség esetén.

Tanulmányunkban 10 év, infertilitás miatt végzett citogenetikai vizsgálatainak eredményeit dolgoztuk fel (n=489 férfi, n=780 nő). Az adatok retrospektív elemzése révén célunk volt a kromoszómaaberrációk típusának és előfordulási gyakoriságának meghatározása és a kimutatott szerkezeti eltérések gyakoriságának összehasonlítása a nemben illesztett kontroll csoporttal.

A citogenetikai eredmények retrospektív analízisekor mindkét nemben kb. ~8%-ban igazolódott kromoszóma eltérés, az esetek ~92%-ában normál volt a kariotípus. Számbeli kromoszóma eltérések kizárólag a nemi kromoszómákat érintették, szerkezeti kromoszómaaberrációk közül kiegyensúlyozott transzlokáció közel azonos arányban fordult elő a két nemben. A férfi infertilis csoportban az inv(9) prevalenciája szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll populációé, míg a nők esetében nem volt különbség a két csoport között. Az ún. "Single Cell Translocation (SCT)" olyan, egy osztódó sejtben előforduló transzlokációt jelent, ami az egyébként normál kromoszómakészletű egyénben mutatható ki. Az SCT-k prevalenciája mindkét infertilis csoportban szignifikánsan nagyobb volt.

Elsőként készítettünk Magyarországon nagy esetszámot vizsgáló tanulmányt az infertilitás hátterében álló kromoszóma eltérések típusáról és gyakoriságáról. Eredményeink alapján nem feltételezhető, hogy az inv(9) patogenetikai szereppel bírna az infertilitás kialakulásában. További adatokat szolgáltatunk az eddig ritkán vizsgált SCT-k típusáról és gyakoriságáról infertilitásban, ezek klinikai jelentőségének meghatározása azonban további vizsgálatokat igényel.

Trio vizsgálatok jelentősége új generációs molekuláris citogenetikai módszerekkel a prenatális vizsgálatokban

Beke Artúr¹, Pikó Henriett², Árvai Kristóf³, Csaba Ákos¹, Kósa János², Ács Nándor¹, Lakatos Péter²

¹ *Semmelweis Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest*

² *Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Budapest*

³ *Semmelweis Egyetem Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest*

A prenatális diagnosztika célja a méhen belül fejlődő magzat rendellenességeinek feltérképezése, időben történő diagnosztizálása, a házaspárok számára azon lehetőség biztosítása, hogy a törvényi kereteken belül dönthessenek a fejlődő magzat betegsége esetén a magzatuk sorsáról. A prenatális szűrés és diagnosztika jelenlegi két alappillére a nagy felbontású ultrahang technika és a célzott biopszia (lepény szövet, magzatvíz, esetleg magzati szövetek) során nyert minta cytogenetikai vagy molekuláris biológiai elemzése. Jelenleg Magyarországon a rutinszerűen kinyert lepényi ill. magzatvíz mintából elvégzett cytogenetikai vizsgálat (kariotipizálás) a vizsgálatok „gold standard”-je, amely a magzati kromoszómák számbeli és durva szerkezeti rendellenességeinek kimutatására alkalmas. Magyarországon a molekuláris cytogenetikai módszerek rutinszerű prenatális felhasználására a QF-PCR vagy FISH technikát alkalmazzák a detektált kromoszóma rendellenességek célzott megerősítésére, pontosítására. A negatív kariotipizálást követően a CMA vizsgálat javasolt a mikrodéléciók/mikroduplikációk feltérképezésére ill. további vizsgálatként a prenatális WES analízis jön szóba, amellyel a pontmutációkhoz köthető kórképek és compound heterozigóta esetek szűrhetők ki.

Eddig több mint 200 CMA/WES prenatális analízis tapasztalatai alapján megállapíthatjuk, hogy gyakran indokolt a Trio vizsgálatok prenatális alkalmazása, mivel a nagyobb felbontású vizsgálati módszerekkel (CMA, WES) kapott eredmények értelmezése számos esetben csak a szülői vizsgálattal lehetséges. A kiegyensúlyozott transzlokáció vizsgálata a szülőknél szükségszerű a prenatálisan több CNV-t mutató magzati minták esetén, ill. az autoszómális recesszív öröklődés menettel jellemezhető géneket hordozó CNV eltéréseknél a WES vizsgálattal a compound heterozigótaság kizárására is fókuszálni kell.

Mikrodeléciós MLPA vizsgálatok jelentősége MECP2 duplikációs szindrómával érintett család esetében

Bokor Barbara Anna, Török Dóra, László Zsuzsanna, Horváth Emese
Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Genetikai Intézet, Szeged

Bevezetés:

Nem specifikus fejlődési elmaradással jelentkező páciensek esetén a G sávtechnikával elvégzett kariotípus elemzés kiegészítése mikrodeléciós MLPA vizsgálattal segíthet a genotípus-fenotípus összefüggések felállításában olyan esetekben, amikor array-CGH vizsgálatra nincs lehetőségünk.

Esetismertetés:

Neurológus szakorvos kérte egy 6 éves leány genetikai konziliumát mozgás- és beszédfejlődésben észlelt elmaradás miatt. A kromoszóma vizsgálat normál női kariotípust eredményezett. A mikrodeléciós MLPA 1A panel vizsgálat során az Xq28 kromoszómális régióban az MECP2-3, valamint az MECP2-1 próbánál heterozigota duplicatio volt detektálható. Xq28 kromoszómális régióra specifikus FISH vizsgálat nem bizonyult alkalmas módszernek a duplicatio alátámasztására. A családvizsgálat során az egészséges féltestvéreknél az MECP2 génben Mikrodeléciós MLPA 1A panel vizsgálattal duplicatiót nem detektáltunk. A szülők vizsgálatánál azonban az édesanyánál, a gyermek genotípusával megegyező eltérést azonosítottunk. A gyermeknél és az édesanyánál észlelt fenotípust (alacsony iskolázottság, intellektuális fejlődésbeli elmaradottság) az általunk észlelt genotípus következményének tartható. Az édesanya következő várandóssága során elvégeztük a magzat MLPA vizsgálatát, amellyel a fiú magzatnál detektálásra került az MECP2 génben a duplicatio. A várandósság befejezése azonban az egyidejűleg elvégzett prenatális magzati kariotípus vizsgálattal azonosított 21 triszómia miatt történt meg tájékoztatást követően

Megbeszélés:

Az általunk bemutatott anya-lánya esetében a mikrodeléciós MLPA 1A panel alkalmazásával egy ritka, X-hez kötött öröklődésmentet mutató kórállapotot, az irodalomban leírt MECP2 duplikációs szindrómát igazoltunk. MECP2 duplikáció esetén az érintett férfiak mind mutatnak klinikai tüneteket (enyhe dysmorph jegyek, hypotonia, megkésett mozgásfejlődés, az alsó végtagok progresszív spaszticitása, egyhe-súlyos mentális elmaradás, autisztikus viselkedés, epilepsziás görcsök, visszatérő felső légúti fertőzések, gasztrointesztinális tünetek). Az érintett nők általában tünetmentesek, ritkán enyhe mentális retardatio, bizonyos esetekben a férfiakhoz hasonló tünetek észlelhetők.

Ivarsejti mozaikosság FOXP1-asszociált idegfejlődési szindrómában

Zsigmond Anna, Till Ágnes, Baráti László, Berenténé Bene Judit, Hadzsiev Kinga
PTE KK Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

A FOXP1 gén mutációi tehetők felelőssé egy jól ismert idegfejlődési zavar, az Értelmi akadályozottság beszédfejlődésbeli elmaradással és autisztikus tünetekkel vagy anélkül (OMIM 613670) szindróma kialakulásáért. A FOXP1 gén a forkhead box 1 fehérjét, egy a korai embrionális fejlődésben szerepet játszó transzkripciós faktort kódolja. A szindróma főbb jellegzetességei az értelmi elmaradás, megkésett beszédfejlődés, autizmus spektrum zavar, hypotonia és minor anomáliák, melyekhez különböző agyi-, szív- és urogenitális fejlődések társulhatnak.

Egy testvérpár esetét szeretnénk bemutatni, akiknél de novo heterozigóta FOXP1 eltérést azonosítottunk. A 4 éves kislányt, illetve a 10 hónapos húgát pszichomotoros elmaradás, hypotonia, indokolatlan nevetések és hasonló dysmorphiás jegyek miatt vizsgáltuk. A 4 éves fiúnál a fentiek mellett súlyos beszédfejlődésbeli elmaradást észleltünk. A fiú gyermeknél teljes exom szekvenálás vizsgálattal egy patogén heterozigóta eltérés volt kimutatható, mely a testvér célzott mutációvizsgálata során csakugyan azonosítható volt. A szegregáció analízis de novo eredetet tárt fel, mely ivarsejti mozaikosságra utal.

Új generációs szekvenálás vizsgálattal ritka intellektuális elmaradással járó szindrómák hátterében gyakran kerülnek felismerésre de novo variánsok. Ezekben az esetekben az ismétlődési kockázat alacsony. Amennyiben azonban az eltérés a szülői ivarsejtekben jelen van, az ismétlődési sokkal kockázat magasabb. Az ivarsejti mozaikosság aránya általában ismeretlen.

CANVAS, egy gyakori ataxia molekuláris genetikai diagnosztikájának útvesztői

Udvari Szabolcs, Buzai-Kiss Lilla, Sági Judit, Balicza Péter, Jimoh Idris János, Palásti Ágnes, Grosz Zoltán, Molnár Mária Judit
Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

A CANVAS-szindróma (cerebelláris ataxia neuropathiával és kétoldali vestibularis areflexia szindrómával) progresszív és ataxiát okozó neurológiai betegség.

A CANVAS betegséget az RFC1 gén AluSx3 elemének poly(A) régiójában az AAGGG ismétlődés biallélikus expanziója okozza. Az expanzió NGS módszerrel nem detektálható. Az allél eloszlás: 75,5% (AAAAG)₁₁ 13,3%(AAAAG)_{exp}, 7,9% (AAAGG)_{exp}, 0,7% (AAGGG)_{exp}, 2,6% egyéb, nem megállapított allél. A kóros AAGGG_{exp} allél 400-2000 repeatet tartalmaz (Cortese et al, Nat Genet, 2019).

A betegség molekuláris diagnosztikájának első lépésként repeat-primed PCR segítségével szükséges igazolni az AAGGG_{exp} jelenlétét. A homozigóta status igazolásához a normál allél kizárása szükséges. Flanking PCR detektálja az AAAAG₁₁ allélt és kisebb AAAAG_{exp} és AAAGG_{exp} allélok jelenlétét. Nagyobb AAAAG_{exp} és AAAGG_{exp} allélok igazolására repeat-primed PCR elvégzése szükséges. Negatív allél hiányában Southern Blot segítségével lehet igazolni, hogy mindkét allél kóros méretű. Southern Bloton EcoRI emésztés után az AAAAG₁₁ allél 5,0 kB méretű fragmenst ad. Dominik et al (J Neurology, 2021) alapján kóros expanzió esetében 7-15 kB fragmens detektálható, a 6,5 kB alatti fragmenst minősíti egyértelműen negatívnak.

Intézetünkben az elmúlt évben 66 beteget vizsgáltunk. Összesen 11 esetben detektáltunk AAGGG_{exp} allélt, azonban az egyik esetben a mintázat alapján a hibrid allél nem csak AAGGG repeatet tartalmazott. A 11 esetből flanking PCR 3 esetben detektált normál AAAAG₁₁ allélt (a hibrid expanziót tartalmazó ezek között volt) 1 esetben pedig repeat-primed PCR normál, AAAAG_{exp} allélt detektált. 7 minta esetében az elvégzett PCR vizsgálatok alapján a biallélikus AAGGG expanzió valószínűsíthető volt. Ezek közül 6 esetben volt lehetőség Southern Blot elvégzésére. Egy mintában detektáltunk nem kóros méretű allélt, a többi mintában a vizsgálat megerősítette a pozitív CANVAS diagnózist. 4 mintában nem sikerült egyértelműen azonosítani két különböző méretű kóros allélt, valószínűleg a két allél hasonló méretű.

Transzkript szintű vizsgálatok szerepe az örökletes daganatok genetikai diagnosztikájában

Bozsik Anikó^{1,3}, Butz Henriett^{1,2,3,4}, Papp János^{1,3}, Pócza Tímea¹, Grolmusz Vince^{1,3}, Horti-Oraveczi Klaudia¹, Patócs Attila^{1,3,4}

¹ Molekuláris Genetika Osztály és Nemzeti Tumorsejtbiológia Laboratórium, Országos Onkológia Intézet, Budapest

² Onkológiai Biobank Központ, Országos Onkológia Intézet, Budapest

³ Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Budapest

⁴ Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Laboratóriumi Medicina Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Bevezetés: Az örökletes daganatok háttérében álló csíravonalas hajlamosító mutációk közé tartoznak a hibás intron-kivágódásért felelős genetikai variánsok (úgynevezett splice mutációk) is. A genomiális DNS-genotipizálás során azonosított variánsok splicing-ra gyakorolt befolyása csak a donor és akceptor konszenzus dinukleotidokat érintő szekvencia-eltérések esetén egyértelmű, egyéb, a tágabb splice régióba tartozó variánsok hatása azonban *in silico* predikciós módszerekkel csak valószínűsíthető. Sok esetben szükség van célzott, transzkript szintű vizsgálatra a variáns funkcionális értelmezéshez.

Anyag és módszer: A variánshordozó beteg perifériás véréből RNS-t izoláltunk, majd azt reverz transzkripcióval cDNS-be írtuk át. A cDNS-templátról a variáns környéki exonokat közrefogó RT-PCR-amplifikációkkal, majd ezt követő agaróz gél szeparálással és kapilláris fragment analízissel vizsgáltuk aberráns termék jelenlétét kontrollok mellett. Ennek pontos szekvenciáját és a belőle levezethető hibás intronkivágási eseményt kétirányú Sanger szekvenálással határoztuk meg. Variáns allélegyensúly vizsgálattal a hibás átírat stabilitását értékelhettük. Markerek segítségével az aberráns transzkript képződés arányára is választ kaphattunk. Minden beteg hozzájárult a vizsgálathoz (ETT-TUKEB 53720-4/2019/EÜIG).

Eredmények: Az 2019-2023 között végzett, genetikai rákhajlam feltárására irányuló csíravonalas diagnosztikai szekvenálásaink során splice hatásúként gyanúsított 54 variáns transzkript szintű vizsgálatát végeztük el elsősorban örökletes emlő- és petefészekrák, valamint örökletes vastagbél-daganatok hajlamosító génjeiben. Kilenc esetben igazolódott be a variáns által okozott hibás intronkivágódás, ezekből hét variáns a leolvasási keret eltolódását és a transzkript lebomlását okozta, így egyértelműen patogén variánsnak minősültek és átsorolásuk javasolt. Két esetben – bár az aberráns átírat egyértelműen jelen volt – annak aránya elhanyagolhatóan alacsonynak bizonyult patogén hatás kifejtéséhez, vagy az általa létrehozott hibás transzkript nem zavarta meg egyértelműen a kódolt fehérje funkcionalitását. Ezen utóbbi esetekben a variáns klinikai besorolása ezzel a vizsgálattal nem változott.

Összefoglalás: A transzkript szintű vizsgálatok hozzájárultak a genetikai rákhajlam precízebb feltárásához, az egyértelműen splice hatású variánst hordozó betegek és családtagjaik részesülhetnek a megfelelő prevenció és terápiás eljárásokban.

Támogatás: NKFIH 2020-1.1.6-Jövő-2021-00008

A 14q11.2 mikrodélációk (CHD8 és SUPT16H gének) fenotípusának kiterjesztése

Lengyel Anna¹, Pinti Éva¹, Pikó Henriett², Fekete György¹, Haltrich Irén¹

¹ Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Tűzoltó utcai Részleg, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Budapest

A 14q11.2-es kromoszómarégió mikrodélációja neurodevelopmentalis zavarokkal (többek közt értelmi elmaradás, fejlődési elmaradások, autizmus spektrum zavar, egyéb neuropszichológiai kórképek), macrocephaliával és jellegzetes minor anomáliákkal (hypertelorismus, lateral felé lejtő szemrések, széles orr, hosszú philtrum, fülkagyló eltérések, ajak eltérések) társuló kópiaszám eltérés. A korábban megállapított minimális kritikus régió 35 kilobázis nagyságú és két gént tartalmaz – CHD8 és SUPT16H. Az előbbi egy jól ismert autizmus-asszociált gén, az érintettekben általában társul macrocephalia és gastrointestinalis tünettan. A SUPT16H gént nemrégiben hozták összefüggésbe neurodevelopmentalis zavarokkal, epilepsziával, korai pubertással és corpus callosum eltérésekkel; macrocephalia nem ismert tünettársulás.

Neurodevelopmentalis zavarok miatt beutalt gyermekgyógyászati vizsgálati csoportunkból (N=78) három gyermeknél azonosítottunk egymással átfedő, ~500 kilobázis nagyságú 14q11.2 mikrodélációt. Minden gyermek részletes klinikai fenotipizáláson esett át, a genetikai kivizsgálás hagyományos G-sávok kariotipizálást és kromoszomális microarray-vizsgálatot tartalmazott. Betegeink összehasonlítása a szakirodalomból és nemzetközi adatbázisokból ismert esetekkel (n=12, legalább 50%-ban átfedő és hasonló nagyságú mikrodélációt hordozó esetek) lehetővé tette a mikrodéláció fenotípusának kiterjesztését. Az alábbi új tüneteket tapasztaltuk 2/3 betegünkönél: növekedési elmaradás/alacsonynövés, fokozott izomtónus, ventriculomegalia, fokozott szőrnövekedés. Egyik gyermeknél sem észleltünk macrocephaliát, az egyikük a generalizált növekedési elmaradásának megfelelően microcephalnak bizonyult. Eredményeinket összevetve a nemzetközi esetekkel fontos megfigyelés, hogy a macrocephalia kb. 40%-ban volt társuló tünet, így már nem tekinthető a obligát fenotípusjegynek a CHD8-SUPT16H mikrodélációk esetében.

A Noonan szindróma „ezer arca”

Pintér Adrienn Lilla, Zsigmond Anna, Till Ágnes, Hadzsiev Kinga
Pécsi Tudományegyetem, Központi Klinikai Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

A Noonan szindróma a RAS-opathiák csoportjába tartozó, klinikailag és genetikailag is heterogén, fejlődésbeli zavart okozó betegség, melynek jellemző tünetei az enyhe arcdysmopriás jegyek, alacsonynövés, szívfejlődési zavar vagy cardiomyopathia, vérzékenység és csontrendszeri eltérések. A Noonan szindróma előfordulása 1:1000-2500 újszülött. Az esetek felében a PTPN11 gén heterozigóta mutációi okozzák. A PTPN11 génnek szerepe van a RAS/MAPK jelátviteli útvonalban, szabályozva a sejtosztódást és növekedést, a sejt differenciációban és migrációban játszva szerepet. Ritkábban egyéb gének, pl.: SOS1, RAF1, RIT1, KRAS, NF1 gének is szerepet játszanak a szindróma kialakulásában. A Noonan szindróma autoszomális dominánsan öröklődik, az esetek közel felében valamelyik érintett szülőtől öröklődik.

Néhány esetünk kapcsán szeretném bemutatni, az intézetünkben az elmúlt időszakban diagnosztizált genotípusos és fenotípusos heterogenitást mutató Noonan szindrómás betegeinket. A klasszikus tünetek megjelenését láttuk egy nagy család kapcsán, ahol számos családtag érintett. Szeretnék bemutatni egy súlyos pszichomotoros elmaradást mutató Noonan szindrómás gyermeket, továbbá egy ritkább megjelenési formát is ismertetnék. Ebben az utóbbi esetben Noonan fenotípus mellett az NF1 génben találtunk egy patogén mutációt heterozigóta formában, azaz a Neurofibromatózis- Noonan szindróma igazolódott.

A DiGeorge-szindróma klinikai és genetikai spektrumának feltérképezése

Szumutku Fanni, Kovács Árpád Ferenc, Lengyel Anna, Pinti Éva, Kun Ilona, Némethi Zaránd, Abonyi Tünde, Varga Xénia, Fekete György, Haltrich Irén
Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Tűzoltó Utcai Részleg, Budapest

A 22q11.2 mikrodélíciós szindróma az egyik leggyakoribb mikrodélíciós szindróma (1:2000 újszülött). A sokszínű tünetspektrum miatt sokszor későn kerül sor a genetikai vizsgálatra.

Célkitűzésünk a DiGeorge-szindróma hátterében álló különböző genetikai eltérések klinikai hatásának feltérképezése az optimális utánkövetési stratégia kidolgozása céljából.

A genetikai diagnózist fluoreszcens in situ hibridizációs, multiplex ligáció függő próba amplifikációs, microarray-komparatív genomhibridizálás és indokolt esetben G-sávok karyotipizálás módszerek segítségével állítottuk fel. A genotípus-fenotípus összefüggések vizsgálata retrospektív módon történt 2005-2023 között a Semmelweis Egyetem Gyermekgyógyászati Klinika Tűzoltó Utcai Részlegén vizsgált betegek adataiból.

A megnevezett időszakban 60, igazoltan DiGeorge-szindrómás beteget diagnosztizáltunk Klinikánkon (FISH: N=55 MLPA: N=4 array: N=2). Típusos 3Mbp heterozigóta deléciót N=57 esetben, atípusos heterozigóta deléciót N=4 esetben, 10p14 heterozigóta deléciót N=1 esetben azonosítottunk. N=4 esetben a típusos heterozigóta 22q11.2 deléció mellett egy második genetikai eltérést is diagnosztizáltunk, mint 7q11.23 heterozigóta deléció, 9q34.3 heterozigóta deléció, Xp22.31 deléció, t(3;10) transzlokáció. A szívfejlődési rendellenességek közül kamrai septumdefektus N=10, Fallot-tetralógia N=9, aortaív-interrupció N=3, truncus arteriosus N=3 esetben társult a 22q11.2 heterozigóta delécióhoz.

A pontos genetikai diagnózis felállítása nélkülözhetetlen a személyre szabott multidiszciplináris ellátás megszervezéséhez és az életminőség javításához. A korábbi szakirodalmi adatokkal ellentétben nem csak az atípusos, hanem a típusos 22q11.2 mikrodélíciókhoz is társulhatnak egyéb patogén genetikai eltérések.

A KIF21A génben azonosított összetett heterozigóta funkcióvesztéses variánsok szerepe a magzati deformitások hátterében

Illés Anett¹, Pikó Henriett¹, Kósa János¹, Lukács Valéria², Ferenczy Miklós³, Lakatos Péter¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Molekuláris Biológiai Laboratórium, Budapest*

² *Bajcsy-Zsilinszky Kórház és Rendelőintézet, Genetikai Laboratórium, Budapest*

³ *Bajcsy-Zsilinszky Kórház és Rendelőintézet, Szülészeti-Nőgyógyászati Osztály, Budapest*

A KIF21A génről képződött fehérje a plusz végű kinesin motorfehérjék családjába tartozik. Az idegsejtek a kinesin és dynein mikrotubulusfüggő motorfehérjéket használják az alapvető sejtkomponensek axonális és dendritikus mikrotubulusok mentén történő szállítására. A KIF21A génben azonosított genetikai eltéréseket korábban már összefüggésbe hozták az extraokuláris izmok veleszületett fibrózisával (CFEOM). Leggyakoribb formája a CFEOM1, amely 230 000 emberből legalább egyet érint. Az eddigi kórképek autoszómális domináns öröklésmentet mutattak és ezzel összefüggésben monoallélikus kóroki eltéréseket azonosítottak az érintett páciensekben.

Az általunk vizsgált család kórtörténetében két korábbi, súlyos magzati deformitások miatt terminált terhesség és egy egészséges gyermek szerepel. Az előzetes citogenetikai vizsgálatok alapján nem volt egyértelműen azonosítható ok, amely magyarázta volna a magzatok súlyos fenotípusát. A kromoszómális microarray analízis (CMA) során a 12q12 régióban egy 4,1 Mbp hiányt és a szekvenálás során a KIF21A génben egy nukleotidot érintő deléciót azonosítottunk heterozigóta formában. A családi szegregáció megerősítette a két variáns biallélikus szerepét, mivel az egészséges szülők hordozták azokat, míg az egészséges gyermekekben nem voltak azonosíthatóak.

A leírt c.2318delT variáns következtében eltolódik a leolvasási keret, így funkcióvesztéses mutáció alakul ki. Ezt kompenzálhatná a normál allél, azonban a 12q12 régióban bekövetkezett deléció miatt ez hiányzik. Eddigi tudásunk szerint ez az első olyan tanulmány, amely a KIF21A gént érintő teljes hiányt és egy nukleotidot érintő deléciót azonosított multiplex arthrogryposissal társuló súlyos foetális akinesia hátterében. Továbbá az eddigi irodalmi adatok alapján az ismert autoszómális domináns öröklésmentű kórképpel szemben az általunk vizsgált család a harmadik, ahol leírásra került a KIF21A génhez asszociált biallélikus, recesszív formában megnyilvánuló funkcióvesztéses fenotípus.

Eredményeink hangsúlyozzák a klasszikus citogenetika és teljes exom szekvenálás mellett a kromoszómális microarray analízis szükségességét. Fontos lenne a jövőben a megjelenő genetikai eltéréseket a képződő fehérjék funkciójára gyakorolt hatása alapján vizsgálni, ezáltal tágítva a klasszikus mendeli domináns-recesszív elkülönítést.

Csíravonalas *CHEK2* variánsok jelentősége az örökletes emlőrák predispozícióban

Butz Henriett^{1,2,3,4}, Nagy Petra¹, Papp János^{1,3}, Grolmusz Vince^{1,3}, Bozsik Anikó^{1,3}, Pócza Tímea¹, Patócs Attila^{1,3,4}

¹ Országos Onkológia Intézet, Molekuláris Genetika Osztály és Nemzeti Tumorbíológia Laboratórium, Budapest

² Országos Onkológia Intézet, Onkológiai Biobank Központ, Budapest

³ Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Budapest

⁴ Semmelweis Egyetem, Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest

Bevezetés. Az emlőrákra hajlamosító *CHEK2* gén betegségkötő variánsai mellett korábban patogénként leírt három, ún. alacsony penetranciájú eltérés (p.I157T, p.S428F, p.T476M) is azonosítható, melyek klinikai interpretációja ellentmondásos, mivel az ACMG klasszifikáció és a daganatrizikó összefüggése ezen variánsok esetében nem egyértelmű.

Betegek és módszerek. Négy: 1.) 1280 emlő- és petefészekrákos (HBOC), 2.) 191 fiatal (<33 év) emlőrákos, valamint kontrollként 3.) 569 nem-HBOC daganatos és 4.) 96 endokrin daganatos beteg kohorszban vizsgáltuk a csíravonalas genetikai hátteret TruSight Hereditary Cancer Panel könyvtárkészítővel Illumina MiSeq/NextSeq550DX platformon. Minden beteg genetikai tanácsadásban részesült, a vizsgálathoz (ETT-TUKEB 53720-4/2019/EÜIG) hozzájárult.

Eredmények. A HBOC kohorszban az 1280 betegből 235 betegben azonosítottunk a HBOC daganatokért felelős genetikai eltérést (18,3%). A betegségkötő variánsok közül a *BRCA1* és *BRCA2* után a harmadik leggyakoribb patogén variánsokat hordozó gén a *CHEK2* volt (2%, 26/1280). Ezen kívül 50 beteg (50/1280: 4%) hordozott alacsony penetranciájú *CHEK2* variánst. A HBOC betegcsoportban a *CHEK2* patogén/valószínűleg patogén, alacsony penetranciájú, ismeretlen jelentőségű variánsokat és vad típusú gént hordozó betegek között nem találtunk különbséget a daganatkialakulás életkora, szövettani típus vagy a daganat Ki-67 indexe között.

A fiatal emlőrákos betegcsoportban a *CHEK2* patogén/valószínűleg patogén *CHEK2* variánsok 2,6%-ot (5/191), a nem-HBOC daganatos csoportban 0,8%-ot (5/569) tettek ki, míg az endokrin daganatos csoportban ilyen nem azonosítottunk. Az alacsony penetranciájú variánsok előfordulási gyakorisága ez utóbbi három betegcsoportban 5,7; 4 és 4% volt.

Megbeszélés. A *CHEK2* patogén eltérései gyakoriak emlőrákos betegekben, de mint incidentális találat nem-HBOC daganatos betegekben is előfordulnak. Az alacsony penetranciájú variánsok gyakoriak minden betegcsoportban, ami megerősíti, hogy ezek nem tekinthetők klasszikus patogén eltéréseknek. A genetikai lelet kiállításakor fontos különbséget tenni a valódi patogén és a patogénként nyilvántartott, de alacsony penetranciájú variánsok között. Ez később segítséget jelenthet a tanácsadásban és követésben, hiszen a jelenlegi ajánlások egyelőre nem különítik el a patogén/valószínűleg patogén és alacsony penetranciájú *CHEK2* variánsokat hordozó betegek klinikai menedzsmentjét.

Támogatás: ÚNKP-22-5-SE-1, NKFIH 2020-1.1.6-Jövő-2021-00008

Új és rekurráló patogén variánsok detektálása komprehenzív molekuláris genetikai diagnosztika segítségével Lynch szindrómában

Grolmusz Vince Kornél^{1,2,3,4*}, Horti-Oravec Klaudia^{1,5*}, Bozsik Anikó^{1,2,3*}, Pócza Tímea¹, Strausz Tamás⁶, Tóth Erika⁶, Butz Henriett^{1,2,3,4}, Patócs Attila^{1,2,3,4} és Papp János^{1,2,3}

¹ Országos Onkológiai Intézet, Molekuláris Genetikai Osztály, Budapest

² Eötvös Loránd Kutatási Hálózat – Semmelweis Egyetem Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Budapest

³ Nemzeti Tumorbiológiai Laboratórium, Budapest

⁴ Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest

⁵ Semmelweis Egyetem, Doktori Iskola, Budapest

⁶ Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Budapest

* megosztott szerzőség

Bevezetés A Lynch szindróma (LS) a vastagbél- és endometriumdaganatok esetében leggyakrabban igazolódó örökletes daganatos hajlam, melynek hátterében a DNS *mismatch repair* károsító patogén variánsok találhatóak meg az *MLH1*, *MSH2*, *EPCAM*, *MSH6* és *PMS2* génekben. A multigénes panelvizsgálatok által detektált új variánsok esetében kiemelt jelentősége van a talált variánsok által okozott transzkripcionális következmény és az esetlegesen ismétlődő előfordulás vizsgálatának. Jelen munkánk során célul tűztük ki a Lynch szindróma irányában vizsgált betegek komprehenzív molekuláris genetikai vizsgálatát.

Betegek és Módszerek A kutatásba 2021. szeptember és 2023. március között folyamatosan vontuk be azokat a korábban vastagbél- és/vagy endometriumdaganattal diagnosztizált betegeket, akiknél a genetikai tanácsadás alapján a daganat mikroszatellita instabil státusa, vagy ennek hiányában a módosított Bethesda kritériumok teljesítése alapján javasolt volt a genetikai vizsgálat. Tájékozott beleegyezést követően perifériás vérből DNS- és RNS-izoláltunk. A genomiális DNS-t a TruSight Hereditary Cancer Panel (Illumina) kittel történő könyvtárkészítést követően a szekvenálást MiSeq vagy NextSeq550DX készüléken, a bioinformatikai kiértékelést DRAGEN környezetben (Illumina) végeztük. Csírasejtes patogén variáns hiányában, ill. új csírasejtes patogén eltérés esetén cDNS-szintű vizsgálatokat végeztünk. A szomatikus DNS-en biszulfid konverziót követően vizsgálatuk az *MLH1* promoter metiláció jelenlétét.

Eredmények Összesen 101 családból 102 beteget vontunk be a vizsgálatba, akik közül 32 esetben (31%) igazolódott csírasejtes patogén variáns. A talált variánsok közül 5 esetet (16%) korábban nem riportáltak az InSiGHT/LOVD vagy a ClinVar adatbázisaiban, ezek közül azonos vizsgálati időszakban, más iránydiagnózissal, ugyanezzel a panellel két esetben detektáltuk ugyanezeket a variánsokat. Ezen két addicionális beteg esetében szintén LS-hoz társuló manifesztációk igazolódtak (hasnyálmirigy- és prosztatadaganat). Az elvégzett cDNS-szintű vizsgálatok validálták a csírasejtesen detektált patogén eltérést. A szöveti DNS-en elvégzett vizsgálatok az esetek 85%-ban (11/13) igazolták az *MLH1* promoterének metilációját.

Következtetések Az elvégzett komprehenzív molekuláris genetikai diagnosztika magas találati aránnyal detektált csírasejtes patogén variánsokat LS-ban. Az ezen rövid időszak alatt talált két rekurráló új variáns kialakulási mechanizmusának vizsgálatához további kutatások szükségesek.

Az *EZH2* mutációk gyakoriságának térbeli és időbeli vizsgálata szövet és folyadék-biopsziás mintákból folliculáris limfómában

Nagy Ákos¹, Batai Bence¹, Kiss Laura¹, Gróf Stefánia¹, Jóna Ádám², Balogh Alexandra³, Illés Sarolta³, Weisinger Júlia³, Király Péter Attila⁴, Lévai Dóra⁴, Várnai Bálint⁴, Demeter Judit⁵, Santa Hermína⁶, Batai Árpád⁶, Pettendi Piroska⁷, Körösmezey Gábor⁸, Szendrei Tamás⁹, Plander Márk⁹, Mikala Gábor¹⁰, Schneider Tamás⁴, Masszi András⁴, **Bödör Csaba**¹

¹ HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Molekuláris Patológia Tanszék, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

² Hematológiai Osztály, Belgyógyászati Klinika, Debreceni Egyetem, Debrecen

³ Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

⁴ Hematológia és Lymphoma Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Budapest

⁵ Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

⁶ Hematológiai Osztály, Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház, Székesfehérvár,

⁷ Belgyógyászati Osztály, Jász-Nagykun-Szolnok Megyei Hetényi Géza Kórház-Rendelőintézet, Szolnok

⁸ I. Belgyógyászati Osztály, Hematológiai Részleg, Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Budapest

⁹ Haematológiai és Haemosztazeológiai Osztály, Markusovszky Egyetemi Oktatókórház, Szombathely

¹⁰ Hematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Dél-Pesti Centrumkórház, Budapest

Bevezetés: Az epigenetikai szabályozó rendszer mutációi a legtöbb folliculáris limfómában (FL) szenvedő beteg genomjában kimutathatóak. Fontosságát tekintve ezek közül kiemelkednek a betegek mintegy negyedében jelenlevő *EZH2* génmutációk, mely eltérések célzott terápiájaként 2020 nyarán engedélyezték a tazemetostat alkalmazását relabáló/refrakter FL-ben. Az FL-re továbbá jellemző a jelentős térbeli heterogenitás, vagyis a betegség a különböző anatómiai régiókban eltérő morfológiai és molekuláris jellemzőkkel rendelkezhet, így egy-egy terület szelektív vizsgálata nem feltétlenül reprezentálja a szisztémás betegséget. A térbeli heterogenitás feloldására alkalmas a vérben keringő sejtmentes DNS vizsgálata, mivel ezen molekulák az összes tumorosan érintett területről felszabadulnak. Munkánk célja így, egy folyadék-biopszia alapú *EZH2* mutációk detektálására szolgáló teszt kidolgozása volt.

Anyag és módszer: Összesen 123 FL-es beteg szövet- és kezelés előtti folyadék-biopsziás mintáján vizsgáltuk az *EZH2* mutációs státuszt egy saját tervezésű multiplex digitális droplet PCR assay segítségével. Tanulmányunk elsőként vizsgálja az *EZH2* mutációkat párosított szövet- és folyadékbiopsziás mintákban.

Eredmények: Összesítve a betegek 41,5%-a (51/123) volt *EZH2* mutáns a kórlefolyás során. A kezelés előtti szövet- és folyadék-biopsziás mintapárral rendelkező betegek esetében az *EZH2* mutációk teljes gyakorisága 37,8%-nak adódott (43/114). Hat (5,3%), illetve kilenc (7,9%) beteg esetén az *EZH2* mutáció csak a szövet, vagy csak a folyadék-biopsziás mintában volt kimutatható. A folyadék-biopszia alapú *EZH2* mutáció meghatározásnak az érzékenysége 87%-nak, negatív prediktív értéke 92%-nak, míg a szövetbiopszia alapú meghatározás esetén ezek 80% és 89%-nak adódtak. A diagnózis-relapszus mintapárokat vizsgálva az *EZH2* mutációk gyakorisága nem különbözött szignifikánsan (25,7% vs. 41,0%, Khi négyzet próba, $p=0,15$), ugyanakkor a betegek 35,9%-ában az *EZH2* mutációs státusz megváltozása volt kimutatható.

Következtetés: Adataink alapján az *EZH2* mutáció FL-ben egy térben és időben dinamikusan változó biomarker. Eredményeink szerint az *EZH2* mutáció gyakoribb FL-ben a korábban közölt adatoknál (42% vs. 25%), amennyiben ezen térbeli és időbeli jellegzetességeket is figyelembe vesszük.

Finanszírozás: NKFIH KDP-1022882, EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, ÚNKP-21-3-II-SE-24, H2020-739593, K21_137948, TKP2021-EGA-24, TKP2021-NVA-15, FK20_134253, Elixir Hungary

Szekvenciális célzott terápia-rezisztencia molekuláris hátterének vizsgálata krónikus lymphocytás leukémiában

Kotmayer Lili, László Tamás, Alpár Donát, Bödör Csaba

Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

A célzott terápia, mint a BTK inhibitor ibrutinib és a Bc-2 gátlószer venetoclax, megjelenése áttörést hozott a relabált/terápia refrakter krónikus lymphocytás leukémia (R/R CLL) kezelésében. A magas válaszarányok és hosszú progressziómentes túlélés ellenére a betegek egy részében másodlagos vagy szerzett rezisztencia és következetes betegségprogresszió alakul ki. Mivel az ibrutinib- és venetoclax-rezisztencia, valamint a két szerrel szemben fellépő szekvenciális rezisztencia rendkívül kedvezőtlen prognózissal társul, a másodlagos rezisztencia korai felismerése potenciálisan elősegítheti az alternatív kezelési stratégiák bevezetését, valamint a terápiváltásból profitáló betegcsoport azonosítását.

Jelenlegi vizsgálataink során célul tűztük ki egy digitális droplet polimeráz láncreakción (ddPCR) alapuló módszer kifejlesztését a szekunder ibrutinib- és venetoclax-rezisztencia hátterében álló leggyakoribb rezisztenciamutációk kimutatásával.

Munkánk során 83, ibrutinibbel kezelt R/R CLL-es betegtől gyűjtöttünk sorozatos perifériás vérmintákat (PB). A vizsgált betegcsoport a hazai Magyar Ibrutinib Rezisztencia Analízis keretében vizsgálat 126 beteg közül került kiválasztásra. További PB mintákat gyűjtöttünk 67 olyan R/R CLL-es betegtől, akik venetoclax monoterápiában vagy venetoclax-rituximab kombinációs kezelésben részesültek.

Az ibrutinib- és a venetoclax-kezelt betegcsoportokban a medián követési idő 40, illetve 23 hónap volt. A 83 ibrutinib-kezelt R/R CLL-betegben a BTK p.Cys481Ser-t az esetek közel felében mutattuk ki, és a mutációt hordozó betegek 80%-ánál figyeltünk meg progressziót a követési idő alatt. A venetoclax-kezelt betegpopulációban a BCL2 p.Gly101Val és p.Asp103Tyr az esetek 10,4%-ában, illetve 11,9%-ában volt kimutatható. Tizenegy p.Gly101Val és/vagy p.Asp103Tyr-t hordozó beteg közül tíznél (90,9%) a betegség progresszióját figyeltük meg. Huszonegy ibrutinib terápiaiban részesülő betegnél a progressziót követően venetoclax terápia került beállításra. Az ibrutinibbel és a venetoclax-szal szembeni szekvenciális rezisztencia 11 esetben fordult elő, 3 beteg mind a BTK p.Cys481Ser, mind a két BCL2 hotspot mutáció valamelyikét hordozta.

Összességében az ibrutinib-rezisztencia hátterében álló egy mutációs hotspot és a venetoclax-rezisztencia hátterében álló két rezisztenciamutáció ultraszenzitív ddPCR vizsgálatával sikeresen azonosítottuk a háttérben álló molekuláris mechanizmust a progressziót mutató betegcsoport kétharmadában (32/44 és 10/23 az ibrutinib-, illetve venetoclax-rezisztens betegkohortokban).

Újszülöttkori SMA-szűrés hazánkban

Mikos Borbála

Magyarországi Református Egyház Bethesda Gyermekkórháza, Budapest

Bevezetés: A megszületést követő átmeneti időszakban tüneteket még nem mutató, ezért csak késleltetve felismerhető, súlyos progresszióval, és visszafordíthatatlan egészségkárosodással, életminőségromlással járó betegségek sikeres kezelésének egyedülálló lehetősége az újszülöttkori szűrés. Hazánkban 1975 óta folyamatosan bővül azoknak a betegségeknek a száma, melyeket kötelezően szűrnek minden újszülöttnél, az SMA szűrésére azonban 2022-ig nem volt lehetőség. Miután az irreverzibilis motoneuronpusztulással, és súlyos deficitekkel (mozgásfunkcióvesztés, légzés- és nyelésképtelenség, bénulás) járó SMA napjainkban már kezelhető betegség, a hazai szakemberek egységesen foglaltak állást abban, hogy mielőbb szükséges az SMA szűrésének a bevezetése is Magyarországon.

Módszer: A szakmai grémium kutatási programot kezdeményezett az újszülöttkori SMA-szűrés elindítására. Az engedélyeztetési eljárásokat követően 2022. november 1- től elindult a nemzeti szintű, önkéntes szűrőprogram. A csatlakozó intézményekben a szülők hozzájárulásával az újszülötteknél a kötelező szűrésekre levett vérmintából a Semmelweis Egyetem és a Szegedi Tudományegyetem szűrőközpontja elvégzi az SMA-szűrést is. Pozitív lelet esetén a Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete validáló genetikai vizsgálattal igazolja és pontosítja a betegség genetikai jellemzőit. A klinikai genetikus és a család által közösen hozott döntés alapján történik a gyógyszeres kezelés megválasztása.

Eredmények: A szűrés megindulása óta eltelt 8 hónap alatt a megszületett gyermekek 70,8%-ánál kérték az SMA-szűrést is, melynek eredményeként 5 gyermeknél tünetmentes állapotban, néhány hetes életkorban megkezdődhetett a gyógyszeres kezelés. Az azóta eltelt időszakban valamennyien tünetmentesek, eszközös légzés-és táplálástámogatást nem igényelnek, mozgáskészségeik egészséges kortársaikkal azonosak. Az újszülöttek azon 30%-ánál, akiknél nem kérték, sajnos csak a tünetek megjelenésekor kerülhet sor a diagnózisra és terápia indításra, melynek hatékonysága azonban a betegség előrehaladásával csökken.

Összegzés: A kutatás eddigi eredményei egyértelműen igazolják, hogy kizárólag az SMA újszülöttkori szűrésével érhető el a maximális egészségnyereség a betegek számára. Ezért rendkívül fontos minden fórumon felhívni a figyelmet a szűrési program lehetőségére és jelentőségére, melynek végső célja, hogy az SMA is bekerüljön mielőbb hazánkban a kötelező újszülöttkori szűrések palettájába.

Irodalom:

Mikos B, Szatmári I, Monostori P, Molnár MJ, Bereczki Cs, Szabó A, Csósz K, Muzsik B, Velkey GyJ: Új korszak a veleszületett gerincvelői izomsorvadás terén. Gyermekgyógyászat 2023; 74(3): 125-131.

Hazai tapasztalataink bemutatása a prenatális CMA/WES vizsgálatokkal kapcsolatban

Kósa János^{1,2}, Árvai Kristóf³, Beke Artúr⁴, Nagy Sándor⁵, Elekes Tibor⁶, Török Olga⁷, Balla Bernadett¹, Tobiás Bálint², Illés Anett¹, Lakatos Péter^{1,2} és Pikó Henriett¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Budapest*

² *ELKH-SE ENDOMOLPAT Munkacsoport, Budapest*

³ *Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest*

⁴ *Semmelweis Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest*

⁵ *Petz Aladár Egyetemi Oktató Kórház, Budapest*

⁶ *Genviron Prenatal, Székesfehérvár*

⁷ *Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Debrecen*

A klasszikus citogenetika (kariotipizálás) több mint fél évszázada a prenatális diagnosztika alappillére. Az újgenerációs molekuláris genetikai módszerek megjelenése a magasabb diagnosztikai felbontás lehetőségét hozta magával. A magzati molekuláris genetikai vizsgálatok közül három újgenerációs módszert emelhetünk ki, amelyek napjainkra teret hódítottak:

i) a kromoszóma-mikroarray-analízis (CMA) diagnosztika, amelynek felbontása körülbelül százszorosa a klasszikus kariotipizálásnak. A CMA analízissel szubmikroszkopikus, klinikailag jelentős kópiaszám-variánsokat (CNV-k) mutathatók ki a strukturális rendellenességgel rendelkező magzatok körülbelül 14 %-ában és a strukturális szempontból normális terhességek 1,2-1,7%-ában, amelyeknél az anya magas életkora, pozitív nem invazív szűrő teszt vagy az anyai aggodalom miatt történt mintavétel.

ii) a teljes exom szekvenálás (WES) egyetlen megváltozott bázispárt is képes azonosítani, és a strukturális rendellenességekkel rendelkező magzatokban mintegy 10-20%-os diagnosztikai többlet információt adhat, ha a kariotípus és a CMA negatív eredményt ad.

iii) az újgenerációs citogenetikai módszerrel, az ún. optikai genomialis térképezéssel (OGM) lehetőség nyílik nagy felbontású CNV-k és strukturális variánsok egyidejű detektálására (kiegyensúlyozott transzlokációk, inverziók, inszerció).

Munkacsoportunk 235 esetben végzett magzati CMA/WES analízist, amelyeknek összefoglalását mutatjuk be előadásunkban. Minden esetben negatív klasszikus citogenetikai vizsgálat után indítottuk a molekuláris citogenetikai vizsgálatokat. A leggyakoribb eltérés a prenatális vizsgálati kohortunkban a 16p11.2 régióban található 1,2-1,4 Mb méretű mikrodélécio vagy mikroduplicáció, amely az elvégzett postnatal és prenatal esetekben is VUS-fenotípussal társult. A prenatális vizsgálatainknál 30,4 %-ban CMA vagy WES analízis eredményeként igazoltunk valamilyen patogén eltérést, amelynek egy része összefüggésbe hozható volt a leírt ultrahangos eltérésekkel. Azokban az esetekben, amelyeknél a kapott vizsgálati eredmény nem volt összefüggésbe hozható az ultrahangos eltéréssel a nemzetközi ajánlásokban leírtak alapján jártunk el. A CMA-, WES- OGM- adatok értelmezése jelentős tapasztalatot igényel, és az eredmények közzétételét a szakmai társaságok iránymutatásai alapján javasolt végezni.

Epigenetikai vizsgálatok a fenotípusbeli variabilitás hátterében álló különbségek azonosítására

Nagy Nikoletta^{1,2}, Margit^{1,2}, Kun József³, Gálik Bence³, Urbán Péter³, Fábos Beáta⁴, Neller Alexandra¹, Danis Judit^{5,6}, Ádám Éva^{1,2}, Gyenesei Attila³, Széll Márta^{1,2}

1 Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai Intézet, Szeged

2 ELKH-SZTE Funkcionális Klinikai Genetikai Kutatócsoport, Szeged

3 Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

4 Kaposi Mór Oktató Kórház, Kaposvár

5 SZTE SZAOK Immunológiai Tanszék, Szeged

6 ELKH-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

A Papillon-Lefevre szindróma (PLS) és a Haim-Munk szindróma (HMS) periodontitissel és palmoplantáris keratoderma kialakulásával járó ritka monogénis bőrbetegségek. A HMS további klinikai jellegzetessége az acroosteolysis, arachnodactylia, pes planus és rekurrens infekciók kialakulása a bőrön. Mindkét betegség autoszómális recesszív öröklődésmentet mutat és kialakulásukért a kathepszin C gén (*CTSC*) patogén mutációi a felelősek. Azonos homozigóta *CTSC* gén mutációt (p.Arg250Ter) hordozó egy HMS-ben és egy PLS-ben szenvedő páciens PBMC-iben, teljes genom metilációs vizsgálatokat végeztünk az Infinium metilációs EPIC array alkalmazásával. Az 50 legnagyobb metilációs különbséget mutató promotereket vizsgálva, jelentős metilációs különbséget detektáltunk az *LCE3C*, *PSORS1C1* és a *SMAD3* gének promoterei esetében. Mindhárom gén funkciója jól köthető a kórképekben fennálló elszarusodási zavarokhoz, ezért feltételezzük, hogy eltérő expressziójuk hozzájárulhat a fenotípusbeli különbségek kialakulásához. A továbbiakban a detektált metilációs különbségek vizsgálatát tervezzük a páciensek bőrbioptizás mintáin is, valamint megvizsgálni azt, hogy az azonosított metilációs különbségek a PBMC-kben és a bőrben eredményezik-e ezen gének eltérő mértékű kifejeződését.

A kockázatbecslés nehézségei a férfi infertilitás komplex citogenetikai kivizsgálása kapcsán

P.Tardy Erika¹, Sarkadi Edina¹, Böjtös Ildikó¹, Tidrenczel Zsolt², Bálint Koppány²

¹ Észak-Pesti Centrumkórház-Honvédkórház, Központi Laboratóriumi Diagnosztikai Osztály, Humángenetikai Részleg, Budapest

² Észak-Pesti Centrumkórház-Honvédkórház, Szülészeti-Nőgyógyászati Osztály, Ultrahang és Genetikai Részleg, Budapest

A férfi meddőség kivizsgálásának évtizedek óta alapvető eleme a kromoszóma-analízis. A citogenetikai laboratóriumi kompetencia hanyatlása, valamint a komplex citogenetikai vizsgálmódszerek hiánya miatt azonban a genetikai tanácsadó nehéz helyzetbe kerülhet a reprodukciós kockázat meghatározásakor. A nem centralizált betegellátásból adódóan a páciensek esetleg csak rész-leleteket kapnak az adott laboratórium lehetőségeitől és technológiájától függően. Továbbra is hiányzik a laboratóriumi módszereket és leletezést érintő szakmai konszenzus, miközben a humán reprodukcióval foglalkozó szakmapolitika egységesített ART hálózatot alakít ki. Fontos kompetencia lenne, hogy a detektált kromoszómarendellenesség meiózisban történő viselkedését értelmezni tudjuk a legmegfelelőbb terápiás út meghatározása érdekében. A spermatogenezis zavarai sok esetben ivarsejtek hiányában nehezen érhetőek tetten, a rutin spermavizsgálat nem terjed ki a spermatogenetikus előalakok citológiai értékelésére, a spermiumok kromoszómavizsgálata sem vált rutin eljárássá.

Előadásunkban olyan eseteket mutatunk be centrumunk anyagából, ahol férfi meddőség vagy habituális vetélés kivizsgálásakor szembesültünk a komplex citogenetikai protokollok hasznosságával, illetve a genetikai kockázatbecslés nehézségeivel. Bemutatjuk az egyes rendelleneségtípusok meiózusra gyakorolt hatását. Zárásként egy eset kapcsán érintjük a tranziens genomi krízis, a kromoanagenézis lehetőségét, melyet vizsgálmódszerek hiányában csak hipotézisként vázolunk fel.

Az egyénazonosítás szerepe a kriminalisztikán kívül

Meggyesi Nóra¹, Órfi Zoltán¹, Varga Lívია¹, Gopcsa László², Lakatos Viktor², Fábíán János², Paksi Melinda², Torbágyi Éva², Reményi Péter², Andrikovics Hajnalka¹

¹ Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Molekuláris Genetikai Laboratórium, Budapest

² Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Hematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály, Budapest

Az igazságügyi orvostanban is alkalmazott egyénazonosító technika, a short tandem repeat (STR) módszer 1%-os érzékenységgel alkalmas a kimériszmus monitorozására allogén hematopoetikus óssejt-transzplantációt (HSCT) követően. Mivel a recipiens eredetű vérképzés jelenléte előre jelezheti a rosszindulatú hematológiai betegség visszaesését (relapszus), ezért egy új, érzékeny, deléciós/inzerciós polimorfizmus (DIP) markereken alapuló digitális droplet PCR módszert állítottunk be a mikrokimériszmus (<1% recipiens vérképzés) detektálására. A vizsgálatba 219, malignus betegséggel diagnosztizált és 2019-2022 között allogén HSCT-n átesett felnőtt beteget vontunk be. Relapszus 39 betegnél alakult ki, melyet a kimériszmus emelkedése DIP módszerrel vizsgálva szignifikánsan előbb jelzett, mint STR-rel (STR vs. DIP, medián 11 nap vs. 43 nap, $p < 0,001$). A 129 akut leukémiás beteg közül HSCT után 78 ért el teljes kimériszmust (100% donor vérképzést, CC), 35 betegnél mikrokimériszmust (mC) és 16 betegnél kevert kimériszmust (1-99% recipiens vérképzés, MC) mutattunk ki. A relapszus arány teljes kimériszmus esetén 2,6%, mikrokimériszmus esetén 5,7%, míg kevert kimériszmusnál 100% volt. A 2 éves teljes túlélés (OS) a CC csoportban 84,6%, a mC csoportban 72,8%, míg a MC csoportban 23,6% volt ($p = 0,001$). Mikro-, és kevert kimériszmus jelenléte esetén a recipiens típusú vérképzés változásának dinamikáját is figyeltük. Emelkedő recipiens arány esetén a 2 éves túlélés 32,8% volt és 65,4%-os relapszus aránnyal. Perzisztáló mikro- vagy kevert kimériszmus esetén az OS 83,7% volt relapszus nélkül. Csökkenő recipiens arány esetén 88,8%-os túlélést figyeltünk meg, és 5%-ban alakult ki relapszus. Az allogén HSCT utáni DIP markerekkel történő kimériszmus vizsgálatot érzékeny, precíz, pontos, könnyen kiértékelhető és automatizálható módszernek találtuk, amely alkalmas lehet egyénazonosításra kis mennyiségű kimériszmus, pl. mikrotranszplantáció, sejterápiák, keringő magzati sejtek kimutatása esetén is.

A farmakogenetika jelentősége a korszerű betegellátásban

Tobiás Bálint¹, Pikó Henriett², Árvai Kristóf³, Illés Anett², Putz Zsuzsanna^{1,2}, Balla Bernadett^{1,2}, Takács István^{1,2}, Lakatos Péter András^{1,2}, Kósa János^{1,2}

¹ ELKH-SE ENDOMOLPAT Munkacsoport, Budapest

² Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Budapest

³ Semmelweis Egyetem Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

A genetika fejlődésének köszönhetően a betegek szűrése, diagnosztizálása, gyógyszerelése és állapotának/terápiás válaszána monitorozása jelentős fejlődésen ment keresztül az elmúlt évek során. Az alapvető gyógyszer-gyógyszer és gyógyszer-étel interakciók oktatása régóta az egyetemi tananyag része, ám a 21. században az individuális gyógyszerelésre is hangsúlyt kell fektetni a terápiák hatékonyságának érdekében, amely révén a gyógyszer mellékhatások csökkentése mellett a terápiás költségek racionalizálása is megvalósítható.

Az EU-ban a kórházi gyógyszerelés során 5-11%-ban fordul elő nem kívánt mellékhatás, amelyek közel 60%-a rejtve marad, így a felmérések szerint éves szinten 197.000 ember halálának állhat a háttérben gyógyszer mellékhatás. Mindezek alapján az 5. helyen szerepel a nem helyes gyógyszerelésből származó halálok az EU-s halálozási ranglistán.

Jelenlegi ismereteink szerint a nem kívánt mellékhatások közel 34%-magyarázható a páciensek eltérő genetikailag háttérével. Mindezen genetikai változatok hatással vannak az analgetikumok, antibiotikumok, antivirális szerek, antidepresszáns és pszichotróp szerek, antidiabetikumok, vérnyomáscsökkentők, véralvadásgátlók, citosztatikumok, GIT-re ható szerek és urológiai gyógyszerek metabolizmusára és effektivitására.

Konfirmált ismereteink gyarapodásával, a genetika és bioinformatika rohamszerű fejlődésével és a kiszolgáló laboratóriumi és informatikai eszközök hatékonyságának növekedésével napjainkra lehetővé vált a korábbi egy- vagy néhány CYP-enzim polimorfizmusának vagy kifejeződésének a vizsgálatával szemben a teljes genom alapú farmakogenomikai meghatározás is. Ezen újszerű megközelítések akár több 10.000 marker alapján adnak személyre szabott információt több, mint 2.000 különböző hatóanyag metabolizmusáról a korszerű és gyógyszerbiztonsági szempontok figyelembevételével történő betegellátás érdekében.

A farmakogenetikai vizsgálatok rutinszerű alkalmazása lehetővé teszi a páciensek csoportosítását a saját egyedi gyógyszermetabolizmusuk alapján, hogy az egyedi interakciók és a polifarmácia káros hatásainak figyelembevételével az optimális terápia felállítható és szükség szerint monitorozhatóvá váljon. Előadásunkban bemutatunk korszerű farmakogenetikai megoldásokat és azokkal kapcsolatos, a Klinikánkon gyűjtött kezdeti tapasztalatainkat.

Forrás:

Pharmacol., 11 April 2018. Volume 9 - 2018 | <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00350>

Epidemiology of Adverse Drug Reactions in Europe: A Review of Recent Observational Studies PMID: 25822400 doi: 10.1007/s40264-015-0281-0

Under-reporting of ADR DOI: 10.2165/00002018-200629050-00003

Epidemiology of drug-related deaths in EU hospitals DOI:10.1111/bcp.14799

European Commission memo/08/782, Prevalence of Drug-gene interactions PMID: 24798722 DOI:10.2217/pgs.14.6

A Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 6 (*TRPV6*) génmutációk szerepének vizsgálata krónikus pankreatitiszben

Pesei Zsófia Gabriella¹, Hegede Réka², Berke Gergő², Németh Csaba Balázs^{3,4},
Bálint Erőss^{2,7,8}, Farkas Gyula Jr⁵, Szentesi Andrea², Czakó László⁴,
Sahin-Tóth Miklós⁶, Hegyi Péter^{2,7,8,9}, Hegyi Eszter²

¹ Department of Medical Genetics, Albert Szent-Györgyi Health Centre, Szeged, Hungary

² Institute for Translational Medicine, University of Pécs Medical School, Pécs, Hungary

³ Hungarian Centre of Excellence for Molecular Medicine – University of Szeged, Translational Pancreatology Research Group, Szeged, Hungary

⁴ Department of Medicine, Albert Szent-Györgyi Medical School, University of Szeged, Szeged, Hungary

⁵ Department of Surgery, Albert Szent-Györgyi Medical School, University of Szeged, Szeged, Hungary

⁶ Department of Surgery, University of California Los Angeles, Los Angeles, California

⁷ Centre for Translational Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary

⁸ Institute of Pancreatic Diseases, Semmelweis University, Budapest, Hungary

⁹ Translational Pancreatology Research Group, Interdisciplinary Centre of Excellence for Research Development and Innovation, University of Szeged, Szeged, Hungary

Bevezetés: A krónikus pankreatitisz (KP) a hasnyálmirigy idült gyulladásos megbetegedése, amely a hasnyálmirigy exokrin és endokrin funkcióinak zavarával, illetve strukturális károsodásával jár. Leggyakoribb kockázati tényezője felnőttkorban a krónikus alkoholizmus, illetve dohányzás, míg gyermekkorban a genetikai rizikófaktorok kerülnek előtérbe. A Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 6 (*TRPV6*) fehérje egy epitheliális kalcium szelektív csatorna, mely a hasnyálmirigy acinus és duktális sejtjein is kifejeződik. Meghatározó szerepe van a kalcium-homeosztázis fenntartásában, melynek zavara a hasnyálmirigy-gyulladás során is megfigyelhető. A közelmúltban olyan *TRPV6* génmutációkat azonosítottak, melyek hajlamosíthatnak krónikus pankreatitisz kialakulására.

Célkitűzés: A *TRPV6* szerepének vizsgálata magyar, nem alkoholos KP (NAKP) kohortban.

Módszerek: A vizsgálatba 145 NAKP beteget és 300 egészséges kontroll egyént vontunk be a Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport Pankreász Regiszteréből. Vérmintákból való DNS izolálást követően a *TRPV6* gén exonjait PCR módszerrel amplifikáltuk, az egyes szakaszokat pedig Sanger-féle szekvenálással vizsgáltuk.

Eredmények: Ezidáig 6 exont sikerült analizálnunk (4, 5, 6, 7, 8, 11), melyekben 3 gyakori polimorfizmust (p.C197R, p.T400=, p.N504=), 3 novel (p.T159I, p.R194C, p.G501C) és 5 már korábban leírt ritka variánst (p.R220W, p.L299Q, p.T309M, p.T309=, p.P352=) azonosítottunk. A gyakori polimorfizmusok közül a p.N504= szignifikánsan gyakrabban fordul elő a betegcsoportban ($P=0,02$; $OR=1,7$; $95\% CI=1,1-2,8$). Az újonnan azonosított missense ritka variánsok esetében in silico analízist végeztünk (MetaSNP), mely alapján mindhárom variáns patogén besorolást kapott.

Következtetés: A magyar betegcsoportban az általunk eddig vizsgált exonokban három új potenciálisan patogén missense *TRPV6* variánst azonosítottunk. További funkcionális vizsgálatokra van szükség annak érdekében, hogy a betegség kialakulásában való szerepüket tisztázzuk.

A GATOR komplex mutációi okozta súlyos epilepszia innovatív terápiás lehetősége

Till Ágnes¹, Hegyi Márta², Zsigmond Anna¹, Szabó András¹, Hadzsiev Kinga¹

¹ Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

² MRE Bethesda Gyermekkórház, Budapest

Az mTOR jelátviteli útvonal a sejt metabolizmus, proliferáció és túlélés központi szabályozója. Összetett regulációjában a sclerosis tuberosa komplex mellett a GATOR komplex is gátló szerepet játszik. A GATOR komplex fehérjéit kódoló gének (*DEPDC5*, *NPRL3*, *NPRL2*) mutációi gyakran azonosíthatók különböző súlyosságú, családi halmozódást mutató fokális epilepszia szindrómák hátterében. A *DEPDC5* és az *NPRL3*-gének funkcióvesztő mutációi állatmodellekben és humán szövettényezetekben is az mTOR útvonal hyperaktivációjához vezetnek, ezért az mTOR gátlók innovatív terápiás felhasználása ezekben a betegekben elméleti lehetőségként felmerül. Előadásunkban két súlyos epilepsziás encephalopathiában szenvedő beteg esetét ismertetjük, akiknél az antiepileptikumokkal uralhatatlan rohamok miatt off-label mTOR gátló kezelést indítottunk. Egyikük esetében kisgyermekkorú indulású, agyi malformáció nélküli, kifejezett regresszióval járó epilepszia hátterében a *DEPDC5* génben azonosítottunk egy heterozigóta misszensz variánst. A másik beteg esetében az újszülöttkori indulású rohamok hátterében egyoldali kiterjedt agyi malformáció igazolódott. Ebben az esetben etiológiaként a 16-os kromoszóma rövid karját érintő, az *NPRL3* gént is tartalmazó, 228 kb nagyságú heterozigóta deléciót mutattuk ki.

Az esetismertetésekkel szeretnénk hangsúlyozni a neurodevelopmentális epilepsziás betegek korai diagnózisának szükségességét, ami jelentősen befolyásolhatja a terápiás megközelítést, akár innovatív terápia bevezetését.

A *GUCA1A* gén új patogén variánsai autoszómális domináns csapdisztrófia háttérében

Varsányi Balázs, Takács Ágnes, Molnár Mária Judit, Szabó Viktória
Semmelweis Egyetem, Szemészeti Klinika

Előadásunkban négy független, autoszómális domináns módon öröklődő csapdisztrófiával érintett család klinikai és molekuláris genetikai eredményeit mutatjuk be.

Az érintett betegeknél a részletes anamnézis és családfa felvétele után vizsgálatuk a látóélességet, szemfenékvizsgálatot, optikai koherencia tomográfiát (OCT), fundus autofluoreszcencia (FAF) vizsgálatot és Ganzfeld elektroretinográfiát végeztünk. Teljes exom szekvenálás (WES) történt 316 gén célzott vizsgálatával, a kapott eredményeket Sanger szekvenálás során validáltuk.

A látóélessége minden érintett betegnek csökkent volt, a maculatájon pigmentált elváltozás volt kimutatható. Az OCT vizsgálat a retina külső rétegeinek elvékonyodását és az ellipszoid zóna érintettségét mutatta. A FAF vizsgálat a maculatájon gyűrűszerű elváltozást mutatott.

A genetikai vizsgálat 3 családban is ugyanazt az aminósav cserével járó heterozigóta variánst (c.305A>G) igazolta a *GUCA1A* génben, míg egy másik esetben ugyanezen génben a c.332A>T variánst mutatta ki.

Az elvégzett képalkotó és elektrofiziológiai vizsgálatok csapdisztrófiát igazoltak. A genetikai vizsgálat során az autoszómális domináns csapdisztrófiát okozó *GUCA1A* gén érintettsége igazolódott: minden esetben is egy korábban nem leírt, a populációs adatbázisokban nem szereplő, az ACMG klasszifikáció és *in silico* elemzések szerint patogén és valószínűleg patogén variáns került leírásra, melyek kóroki szerepét a szegregációs vizsgálatok is alátámasztották.

Multigénese kardio-genetikai profilozás újgenerációs szekvenálás alkalmazásával

Csonka Katalin^{1,4}, Nagy Beáta¹, Dankó Titanilla¹, Fekete Bálint András², Bedics Gábor^{1,4}, Balla, Dorottya², Dohy Zsófia², Szabó Liliána², Fintha Attila¹, Matolcsy András¹, Vágó Hajnalka^{2,3}, Bödör Csaba^{1,4}

¹ *Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest*

² *Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Budapest*

³ *Semmelweis Egyetem, Sportorvostan Tanszék, Budapest*

⁴ *Semmelweis Egyetem, HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék, Budapest*

Az újgenerációs szekvenálás (NGS) bevezetésének köszönhetően a kardiológiai betegségek területén, többek között a cardiomyopathiák, az arrhythmia szindrómák és az aortopathiák genetikai alapjainak megértésében is jelentősen bővült tudásunk. Napjainkban a genetikai vizsgálatok a kardiológiai klinikai gyakorlat részévé váltak, így a Semmelweis Egyetemen 2020 óta beállításra került egy 174 génből álló NGS-vizsgálat. E multigénese kardio-genetikai profilozás 17 örökletes kardiovaszkuláris kórkép, többek között hypertrophiás, dilatatív és arrhythmogén jobb kamrai cardiomyopathia, Noonan-szindróma, hosszú QT-szindróma, Brugada-szindróma, Marfanszindróma és az örökletes aorta aneurysma kivizsgálásának lehetőségét nyújtja. A kardio-genetikai vizsgálat fókuszában a betegséget okozó variánsok azonosítása, majd a fokozott rizikójú családtagok preszimptomatikus vagy prediktív tesztelése áll. A komplex kardio-genetikai szolgáltatás folyamatában a nemzetközi irányelvek (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) ajánlása szerint kardiológus, klinikai genetikus, molekuláris biológus, bioinformatikus és patológus is részt vesz. Az elmúlt két évben 319 beteg vizsgálata történt meg, akik klinikai genetikai konzultáció keretében vehették át elkészült leleteiket. Az esetek 29%-ában azonosítottunk patogén vagy feltehetően patogén variánsokat. A leggyakrabban érintett gének az alábbiak voltak: *MYH7, TTN, MYBPC3, DSP, KCNQ1, FBN1, GLA*.

Az elmúlt időszak eredményei rávilágítanak arra, hogy a Magyarországon is elérhető kardio-genetikai teszt integrációja a diagnosztikai eljárások sorába segít az adott kórkép etiológiájának tisztázásában, a prognózis meghatározásában, családshűrésben, rizikóstratifikációban és a személyre szabott klinikai menedzsment kialakításában.

Pályázati támogatás: Innovációs és Technológiai Minisztérium Tématerületi Kiválósági Programja (2020-4.1.1.-TKP2020, TKP2021-NKTA-46, TKP2021-EGA-24, TKP2021-NVA-15), H2020 (SGa no.: 739593)

Az alfa galaktozidáz enzimaktivitás egy-sejt szintű mérése és a globotriaozil-ceramid felhalmozódás jelentőségének vizsgálata

Kovács Árpád Ferenc¹, Li Luca Kamilla¹, Fekete Nóra², Ruzsics Dalma¹, Kovács Sándor¹, Erhardt Júlia¹, Abonyi Tünde¹, Nagy Bence², Kozma Gergő³, Fekete György^{1,2}, Pállinger Éva²

¹Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika Tűzoltó utcai részleg, Budapest

²Semmelweis Egyetem Genetika, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

³Semmelweis Egyetem, Transzlációs Medicina Intézet

Bevezetés: Fabry-betegség hátterében a galaktozidáz alfa (GLA) gén patogén variációi által kiváltott alfa-galaktozidáz (AGAL) hiányzó vagy kóros működése áll. A megfelelő enzimaktivitás hiányában, globotriaozil-ceramid (Gb3) halmozódik fel a sejtekben, lizoszomális diszfunkciót okozva. Ugyanakkor, a Fabry betegek jelentős részében szubklinikai krónikus gyulladás figyelhető meg.

Célkitűzés: az AGAL aktivitás, a felhalmozódó szubsztát következtében kialakuló lizoszomális diszfunkció és gyulladás multiomikái felmérése.

Anyag és módszer: *in vitro* T-sejtes GLA KO sejtvonal alkalmazásával egy-sejt szintű AGAL enzimaktivitás és kóros szubsztátfelmozódás felmérése áramlási citométerrel történt. A felhalmozódást képkalkító citométerrel validáltuk. Fabry betegek (N=15) szubsztát-felhalmozódása limfocita altípus specifikusan intracelluláris és exofaciális relatív mennyisége került meghatározásra, további molekuláris és klinikai fenotípus adatok korrelációs elemzésével.

Eredmények: Fluoreszcens szubsztát relatív felhalmozódása 6 órás inkubációt követően a Jurkat sejtekben 1459 ± 9 MFI, a AGAL enzimspecifikusan blokkolt sejtekben 2168 ± 9 MFI, a Jurkat GLA KO sejtekben 2265 ± 56 MFI volt. Fabry betegek B-sejtjeiben (exofaciálisan $15,11 \pm 8,25\%$, intracellulárisan $53,24 \pm 18,61\%$) és CD3⁺CD4⁺ T-sejtjeiben (exofaciálisan $3,61 \pm 1,69\%$, intracellulárisan $36,94 \pm 18,94\%$) detektálható a legnagyobb arányban a Gb3.

Következtetés: Egy-sejt szintű enzimaktivitás detektálására alkalmas áramlási citométeres esszét fejlesztettünk, amely várhatóan alkalmazható lesz szűrővizsgálatként a Fabry-betegség gyanújának felmerülése esetén, férfi és nőbetegek esetében egyaránt. Előzetes eredményeink alapján a limfocita alcsoportok közül a CD19⁺ B-sejtekben és CD3⁺CD4⁺ T-sejtekben észlelhető a legnagyobb szubsztát felhalmozódás.

Finanszírozás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal OTKA PD138521 Humán Genomért Alapítvány 2022/2023 kutatási pályázata

Egy-sejt transzkriptomikai és immunomikai T-sejt immundiszfunkció feltérképezése long-COVID-szindrómában

Erhardt Júlia¹, Kovács Árpád Ferenc¹, Németh Ágnes¹, Ranyák Márta¹, Fekete Nóra², Li Luca Kamilla¹, Kovács Sándor¹, Abonyi Tünde¹, Nagy Bence², Fekete György¹, Buzás Edit², Pállinger Éva², Kovács Gábor¹

¹Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika Tűzoltó utcai részleg, Budapest

²Semmelweis Egyetem Genetika, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

Bevezetés: a SARS-CoV-2 fertőzést követően, a gyermekek egy részében kialakuló long-COVID-szindróma jelentős életminőség érintettséggel társul. A T-sejtek az adaptív immunrendszer fő elemei, szervesen részt vesznek úgy a celluláris, mind a humorális immunitás kialakulásában, a virális fertőzések ellen kitüntetett szerepet játszanak.

Célkitűzés: a long-COVID-szindróma tüneteinek szisztematikus felmérésre molekulárisan igazolt akut SARS-CoV-2 fertőzésen átesett gyermekek körében, valamint a T-sejt közvetített immundiszfunkció szerepének a vizsgálata szervi érintettség alapján.

Anyag és módszer: A Semmelweis Egyetem Gyermekgyógyászati Klinikának Tűzoltó utcai long-Covid ambulanciáján 2021.08.01- 2023.06.01 között vizsgált pácienseket (N=250) tüneteik szerint osztályoztuk, a részletes T-sejt immunfenotipizáláshoz 30 főt vontunk be. A kontroll csoportból (N=54) életkorra korrigáltan 10 fő mintáját vizsgáltuk. A releváns klinikai adatok részletes feltérképezése mellett a T-sejt közvetített immunitás felmérése áramlási citometriával, egy-sejt szintű transzkriptomikával és immunomikával történt.

Eredmények: A CD3⁺CD4⁺ T-sejtek száma csökkent a long-COVID-szindrómás gyermekek körében (központi idegrendszeri és mellkasi tünetek 895 ± 268 sejt/μL vs. mellkasi tünetek 685 ± 232 vs. kontroll 1107 ± 573 sejt/μL csoport). A központi memória T-sejtek aránya (mellkasi 21,81 ± 12,37 vs. kontroll 11,15 ± 4,1% csoport) emelkedett, míg a szabályozó T-sejtek aránya csökkent (központi idegrendszeri és mellkasi 3,59 ± 3,23 vs. kontroll 9,35 ± 6,46% csoport). Az NSP3 epitóp specifikus SARS-CoV-2 specifikus T-sejtek aránya (mellkasi 5,26 ± 7,4% vs. kontroll 10,96 ± 5,9% csoport) csökkent, míg az S epitóp specifikus SARS-CoV-2 T-sejt arány (központi idegrendszeri és mellkasi 26,8 ± 12,8 % vs kontroll 17,7 ± 5,2% csoport) emelkedett long-COVID-szindrómában.

Következtetés: Long-COVID-szindrómában szignifikánsan megváltozik a CD3⁺CD4⁺ T-sejtek száma, a T-sejtek aránya is jellegzetesen módosul a tüneteinek függvényében. Az eltérő SARS-CoV-2 epitóp mintázat specifikus memória T-sejtek aránya a T-sejt immunitás diszfunkciójára utal. Előzetes eredményeink alapján a T-sejt közvetített immundiszfunkció valószínűsíthetően jelentős szerepet játszik a long-COVID-szindróma patomechanizmusában.

Finanszírozás: Magyar Tudományos Akadémia, MTA PC2022-9/2022

A szomatikus és csíravonal mutáció szerepe infantilis myofibromatosis kialakulásában

Baráti László, Till Ágnes, Maász Anita, Hadzsiev Kinga
PTE KK Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

Betegünket először négy napos korában vizsgáltuk bal kar mozgásbeli elmaradása miatt intézetünk fejlődésneurológiai rendelésén. Ekkor plexus brachialis laesio miatt neuroterápia indult. Négy hónapos korában ultrahang vizsgálattal jobb bicepszben térfoglaló folyamat igazolódott. Ezt követően bal oldali Horner triász miatt vizsgálták, melynek hátterében gerinc MR során bal oldali paravertebralis térfoglaló folyamat igazolódott. Utóbbi elváltozásból altatásban szövettani mintavétel történt, melynek hisztológiai vizsgálata során myofibromatosis gyanúja merült fel csontvelői érintettség nélkül.

A cervicalis terimeből készült multigén panelvizsgálat során *PDGFRB* génben két missense mutációt detektáltak p.N666K illetve p.P560L helyzetben 26% és 46% allélfrekvenciával, mely a familiaris infantilis myofibromatosis diagnózisát valószínűsítette.

Genetikai tanácsadást követően vérvétel történt. Vérből izolált DNS vizsgálata során korábban kimutatott p. N666K szomatikus, p. P560L csíravonalbeli mutációnak bizonyult. Rózának apai ágon több rokona is tünetes volt, célzott mutáció vizsgálatuk során örökítőanyagukból a fenti, csíravonal mutáció volt kimutatható.

Betegünk ezt követően imatinib terápiában részesült, mely a myofibromák méretének fokozatos csökkenéséhez vezetett.

Az infantilis myofibromatosis esetében a klinikai kép és a tünetek súlyossága széles spektrumon mozoghat a solitaer góctól az életet veszélyeztető, disszeminált tumoros elváltozásokig. A betegség jellemzően két éves kor előtt kerül felismerésre, igazolódása esetén onkológiai gondozásbavétel, rendszeres fizikális vizsgálat, hasi ultrahang és koponya MRI elvégzése javasolt a laesiok gyakori kiújulása és egyéb tünetek (például agyi aneurysma) kialakulásának emelkedett rizikója miatt. A rendelkezésre álló szakirodalmi adatok alapján a vizsgált betegek mintegy felénél detektálható egyidejűleg csíravonalbeli és szomatikus mutáció egyidejű fennállta, melyek gyakran ugyanazon az allélon alakulnak ki. (Hettmer et al., 2021)

A gyógyszer indukálta állcsontnecrosis géndiagnosztikai alapú rizikóbecslése személyreszabott terápia megvalósításához

Balla Bernadett¹, Bojtor Bence¹, Kósa János¹, Pikó Henriett¹, Árvai Kristóf¹, Illés Anett¹, Tobiás Bálint¹, Vaszilkó Mihály², Podani János³, Lakatos Péter¹

¹ *Eötvös Loránd Kutatóhálózat Endokrin Molekuláris Patológiai Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Budapest*

² *Semmelweis Egyetem, Arc- Állcsont- Szájsebészeti és Fogászati Klinika, Budapest*

³ *Növényrendszertani, Ökológiai és Elméleti Biológiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest*

A gyógyszer okozta állcsontnecrosis (MRONJ) a daganatos megbetegedések kezelésében és az osteoporosis terápiájában gyakran alkalmazott antireszorptív készítmények mellékhatásaként kialakuló ritka, de nagyon komoly egészségügyi problémát okozó szövődmény. A betegség nehezen gyógyítható, igen magas a recidívák aránya és súlyos esetben az állcsontok részleges vagy teljes elvesztéséhez is vezethet. A világon megközelítőleg 10 millió biszfoszfonáttal vagy RANKL-gátló gyógyszerrel kezelt beteget tartanak nyilván. Magyarországon ez kb. 300.000 főt jelent.

A téma genetikai aspektusát feltáró kezdeti munkáinkban az akkor egyetlen potenciálisnak tekintett marker, a CYP2C8 gén lehetséges szerepét vizsgáltuk biszfoszfonáttal kezelt MRONJ betegekben. Elsőként írtuk le a CYP2C8 gén rs1934951 polimorfizmusának lehetséges szerepét biszfoszfonáttal kezelt MRONJ betegekben. Eredményeink azt mutatták, hogy a MRONJ mandibularis lokalizációjának rizikója 19,2-szer nagyobb volt az AG genotípusú egyéneknél, mint a normál GG genotípusnál. Majd a Floridai Egyetemen közösen nagyobb számú MRONJ beteganyagban kiterjedt genetikai elemzést végeztünk NGS alapú teljes exom szekvenálással, melynek során a legerősebb exom-szintű asszociációt a 10. kromoszómán található HERC4 gén rs3758392 polimorfizmusa mutatta. A gén csontmetabolizmusban betöltött szerepéről ez idáig irodalmi adat nem áll rendelkezésre. Részt vettünk a tudományterület eddigi legnagyobb GWAS meta-analízisében, több, mint 5000 biszfoszfonáttal kezelt európai MRONJ minta bevonásával, melynek eredményei rávilágítottak egy újabb, a 8-as kromoszómán található rs2736308 polimorfizmus szoros összefüggésére a MRONJ emelkedett kockázatával. Legújabb vizsgálatunkban további genetikai faktorok keresését céloztuk, az MRONJ pathomechanizmusából adódóan elsősorban az immunreakciókban és gyulladásos folyamatokban érintett gének (TLR4, IL-1A, IL-1B, SIRT1) polimorfizmusainak analízisével. A SIRT-1 génben vizsgált SNP-k közül több is szignifikáns eltérést mutatott a beteg és a normál populáció között, különös tekintettel az rs932658 SNP-re, mely a SIRT-1 fehérje fokozott expressziójához vezethet MRONJ páciensekben.

Célunk további genetikai tényezők feltárása és olyan eddig nemzetközileg is egyedülálló klinikai diagnosztikai teszt kidolgozása, amely a hajlamos személyek kiszűrésére és a betegség kockázatának előrejelzésére alkalmas. A kapott eredmények megalapozhatják az antireszorptív terápia (biszfoszfonátok, RANKL-gátló) személyre szabott megközelítését.

A Szemészeti Génterápiás Centrum működésének bemutatása

Szabó Viktória^{1, 2}, Papp András¹, Szabó Antal¹, Barcsay György¹, Resch Miklós¹, Végh András¹, Takács Péter István¹, Besztercei Barbara¹, Takács Ágnes¹, Vámos Rita¹, Lesch Balázs¹, Knézy Krisztina¹, Zobor Ditta¹, Varsányi Balázs^{1, 2, 3}, Molnár Mária Judit², Nagy Zoltán Zsolt¹

¹ Semmelweis Egyetem, Szemészeti Klinika, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

³ Ganglion Orvosi Központ, Pécs

A Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinikáján 2022. júliusában megnyílt az első hazai minősített Szemészeti Génterápiás Centrum. A szem immunprivilegizáltsága révén rendkívül jó génterápiás célszerv, emiatt nemzetközi kutatócsoportok már közel 25 éve fejlesztik a lehetséges terápiákat. Ezek eredményeként törzskönyvezték (szemészeti génterápiában elsőként) a *voretigene neparvovec* nevű hatóanyagot, melyet az *RPE65* gén biállélikus mutációi okozta Leber congenitalis amaurosis (LCA) és retinitis pigmentosa (RP, pálcika-csap dystrophia) betegségek kezelésére fejlesztettek ki. Az adeno-asszociált vírusvektorba csomagolt *RPE65* gént tartalmazó gyógyszert a retinális pigmenthámba kell eljuttatni altatásban végzett pars plana vitrectomia során subretinális injekció formájában.

A Szemészeti Génterápiás Centrumban 2022. őszén történtek az első kezelések LCA-ban szenvedő betegekben, idén további betegek - köztük 1 gyermek - kezelésére is lehetőség nyílt.

A Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinikáján több, mint 30 éve működik Elektrofiziológiai labor, melynek működése során számos kutatás valósult meg az öröklődő retina dystrophiák területén. A nagylétszámú (közel ezer főnyi) betegcsoportunk diagnosztikája és gondozása összetett, rendkívül idő- és eszközigényes feladat. A kivizsgálás során alapos szemészeti és képalkotó vizsgálatot, családfaelemzést, színlátás, látótér ill. elektrofiziológiai vizsgálatokat végzünk. A Szemészeti Klinikán 2019. óta működik Szemészeti genetika szakrendelés, melyen a genetikai tanácsadást követően molekuláris genetikai diagnosztikára is van lehetőség. Az előadásban bemutatjuk a szakrendelés és a génterápiás centrum működését, és az öröklődő retina dystrophiában szenvedő betegeink genotipizálásának eredményeit.

Az Európai Referenciahálózatok (ERN) tevékenysége kapcsán született új irányelvek

Maász Anita, Baráti László, Melegh Béla, Hadzsiev Kinga
Pécsi Tudományegyetem, Központi Klinika Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

A ritka-, ultraritka és komplex betegségek hazánkban és más európai országokban is az esetek többségében későn vagy egyáltalán nem kerülnek felismerésre. Az újgenerációs szekvenálási technikák robbanásszerű fejlődésével lehetőség nyílt ezen betegségek háttérében álló genetikai defektusok gyors felderítésére.

Az Európai Bizottság 2017-ben hozta létre az első 24 ERN-t, amelybe több mint 900 magasan képzett egészségügyi ellátó lépett be. Azóta a számuk hatványozódott és folyamatos a tagfelvétel. Az ERN-ek elsődleges feladata a diagnózis felállításának elősegítésén és új kezelési modelleken túl a betegségek jobb megértése céljából indított klinikai tanulmányok támogatása, a tudás határokon túli áramoltatása, a szakképzés és új terápiás ágensek fejlesztése.

Ezeken kívül az ERN-ek tevékenységének fő irányvonalát a különböző ritka-, és komplex betegségben szenvedő páciensek klinikai és diagnosztikai irányelveinek kidolgozása, illetve különböző nemzetközi betegregiszterek létrehozása adja. Prezentációnk célja egyrészt ezen új irányelvek ismertetése, másrészt az ERN-ek fontosságának kiemelése, hiszen betegeink nemzetközi hálózatokba történő becsatornázásának a betegek diagnózishoz juttatásában, daganatos betegségek esetén a prevencióban és a terápiát érintő döntések meghozatalában is fontos szerepe lehet.

A CFTR modulátor terápia eredményessége és ami mögötte van

Laki István

Törökbálinti Tüdőgyógyintézet, Gyermekpulmonológiai-Bonchológiai osztály

A transzmembrán vezetőképesség-szabályozó (CFTR) modulátorok olyan gyógyszercsoportok, amelyek a hibás CFTR fehérje termelésének, intracelluláris feldolgozásának és /vagy működésének javításával hatnak. Ezek a gyógyszerek rendkívüli előrelépést jelentenek a cisztás fibrózis (CF) kezelésében, mivel a mutáns CFTR fehérje termelését vagy funkcióját célozzák meg, nem pedig annak későbbi következményeit.

A hármas kombinációjú elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor (ETI) modulátor terápia klinikai eredményei kiemelkedően jók, ami a páciensek életminőségében a mindennapokban megmutatkozik. Az előadás célja, hogy magyarázatot találjunk a korábban elképzelhetetlen mértékű és minőségű változás, az exacerbatiók elmaradásának élettani és sejtbioológiai hátterére. A nyálkahártya klorid transzportjának helyreállítása önmagában nem lenne elegendő az exacerbatiók ilyen mértékű csökkenésére. A magyarázat a kloridcsatorna pleiotrop szerepében rejlik:

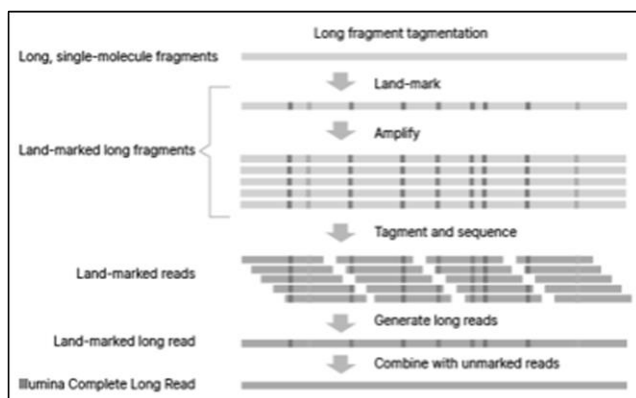
1. CFTR a plazma membránban, pulmonális ionociták (klorid csatorna, nemcsak egy klorid csatorna: HCO₃⁻, GSH, SCN transzport)
2. A CFTR intracelluláris szerepe (vesiculák, endoplazmatikus retikulum, mitokondrium)
3. CFTR és az extracelluláris mátrix
4. CFTR és az oxidatív folyamatok
5. CFTR és a citoskeleton
6. CFTR és a sejtkapcsolatok
7. CFTR és a sejtregeneráció

A változások együttes hatására indul meg a tüdőszövet reparációja, ami látványos légzésfunkciós, mikrobiológiai, gasztroenterológiai és endokrinológiai változásokat eredményezve későbbi életkorban tünetmentességet, korai életkorban alkalmazva pedig betegség mentességet eredményezhet.

“Long Read” szekvenálás előnyei ritka betegségek diagnosztikájában

Balogh Norbert
GeneTiCA Group

Ritka, genetikai eredetű betegséggként mintegy 7500 olyan kórképet tartanak számon, amelyek 2000 emberből legfeljebb egy egyénnél jelentkeznek. Nemzetközi statisztikák szerint globálisan körülbelül 350 millió ember érintett, míg az európai lakosság körében több mint 30 millióra tehető az érintettek száma. A regisztrált esetek túlnyomó többségében súlyos, az életkilátásokat, valamint az életminőséget jelentősen befolyásoló kórképekről van szó, amelyek jelentős hányada már gyermekkorban, a pubertáskor előtt megjelenik, akiknél általában időben elhúzódó diagnosztikai értékeléseket végeznek. A korszerű molekuláris diagnosztikai eljárásoknak (WGS és WES) köszönhetően azonban már rendelkezésre állnak olyan átfogó módszerek a humán genom klinikai környezetben történő elemzésére, amelyek képesek a klinikailag releváns eltérések legtöbb formájának kimutatására. Az NGS alapú diagnosztikában elsősorban a short read szekvenálási technológia nyert eddig teret. Figyelembe véve a short read technológia által nyújtott előnyöket - bázishívások pontossága, a rendelkezésre álló analízis opciók kiforrottsága, illetve NGS mércével mérve annak költséghatékonyasága - talán ez nem meglepő. Az Illumina Inc. által nemrégiben bemutatott Illumina Complete Long Read (ICLR) technológiai innováció (1. ábra) azonban amellett, hogy megőrzi a tradicionális short read technológia mellett felsorakoztatott előnyöket, lehetővé teszi olyan összetett szerkezeti variánsok detektálását, mint nagyméretű inverziók, deléciók vagy transzlokációk, amelyek kimutatása eddig kihívást jelentett. Továbbá, az ICLR technológia a humán genom hagyományosan nehezen feltérképezhető génjeinek, például a nagy variabilitású vagy erősen ismétlődő elemeket tartalmazó régiók feltárását, valamint együtt öröklődő allélok azonosítását, így haplotípus információk kinyerését egyaránt lehetővé teszi.



1. ábra: Illumina Complete Long Read technológia

Precíziós kezelés achondroplasiában: megnyíló lehetőségek és reális kilátások

Molnár Viktor

Semmelweis Egyetem Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete

Az achondroplasia az aránytalan alacsonynövés leggyakoribb oka. Hátterében a végtagok és a koponyaalap enchondralis csontosodó elemeinek növekedési zavara áll, amely a testmagasság csökkenésére, testarányok eltolódásához vezet, sőt főként a cervicomedullaris compressio, alvási apnoe nyomán 2-7,5%-os csecsemőkori halandósággal szövődik. Az FGFR3 génben a G1138A és G1138C variánsok felelősek az állapot többnyire sporadikus, 80%-ban de novo, eseteinek többségéért, ahol az apa magas életkora erős kockázati tényezőnek számít. A funkciónyerő génhiba a csontok fejlődésének azon fázisába avatkozik be, amikor a porcsejtek osztódása és hossztengetyben való felsorakozása történik. Az FGFR3 jelátvittele a MAPK-útvonalon keresztül gátolja a porcsejtek osztódását, amivel a szintén erre az útvonalra konvergáló C-típusú natriuretikus peptid jelpálya aktiválása teremt egyensúlyt. ellensúlyozni tudja a bekapcsolt FGFR3 által indukált növekedés-gátlást. Az achondroplasia okozta életminőség-csökkenés messze túlmutat az alacsonyabb elérhető testmagasságon. Minden életkornak megvannak a jellegzetes nehézségei: a csecsemőkori életveszélyes szövődmények után kisdedkorban a fejlődési késlekedés kerül előtérbe hallásvesztéssel, lumbalis hyperlordosiszal, kontraktúrákkal. Felső légúti obstrukció okozta panaszok a gyermekkorban is áthúzódnak és az alvási apnoe, csökkent izomerő, elhízás nehézségeivel egészül ki. Tinédzserkorban a pszichoszociális kihatások és funkcionális korlátok kerülnek előtérbe, a felnőttkort pedig az gyakori ortopédiai rendellenességek, csonttritkulás, tünetes spinalis stenosis, krónikus fájdalom, elhízás és kapcsolódó problémái dominálják. Az emelkedett szív-érrendszeri kockázat átlagosan 10 év élettartam-vesztést vetít előre. Mindezek aláhúzzák a multidiszciplináris gondozás, a preventív szemlélet és a jól ismert kórfolyamat által előrevetített, elérhetővé vált célzott stratégiák szerepét.

A hypophosphatasia klinikai spektruma – Egy kezelhető csontbetegség

Szegedi Márta¹, Gyebnár János², Robert Petrovic³, Molnár Mária Judit¹

¹Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Orvosi Képzőképző Klinika, Budapest

³Pozsonyi Egyetemi Kórház; Orvosi Biológia Intézet, Pozsony

Email: szegedi.marta@med.semmelweis.univ.hu

Háttér, célkitűzések: A hypophosphatasia (HPP) ritka, multisisztémás, hereditár kórkép, amely a kalcium-, és foszfát mineralizációért felelős, ún. szöveti nem specifikus alkalikus foszfatáz (TNSALP) enzimet kódoló ALPL gén mutációin alapul. Öröklésmenete és klinikai spektruma variabilis. Jelenleg érvényes klasszifikáció szerint 6 klinikai manifesztációt különítünk el. A diagnózis a klinikumon, a betegség specifikus szubsztrát akkumuláció /szérumban piridoxál5'-foszfát (PLP), valamint szérumban és vizeletben foszfoetanol-amin (PEA)/ detektálásán, a genotípezálásán illetve – arany standardként – az életkorra és nemre validált, alacsony ALP aktivitáson alapul. Célunk, hogy a klinikumon alapján feltételezett gyermekkori HPP-t (1. ábra) igazoljuk vizsgálati eredményekkel (2a-e ábrák), klasszifikáljuk a manifesztációt és bemutassuk az adekvát enzimpótló terápiával (ERT) kezelt páciens horizontális nyomonkövetését.

Metodika: Neurológiai, elektrofiziológiai, radiológiai, biokémiai és genetikai vizsgálatokat végeztünk. A biomarkereket HPLC-vel mértük. Az ALPL gént Sanger szekvenálással analizáltuk, a kópiaszám variánsokat pedig MLPA-val detektáltuk. A csontmanifesztációt Radiographic Global Impression of Change (RGI-C) metodikával elemeztük és Rickets Severity Score (RSS) szerint pontoztuk.

Eredmények: A betegnél craniosynostosis miatt 3 alkalommal rekonstrukciós műtét történt. Tünetespektrum: dentinogenesis anomaliák, generalizált muscularis atrophia, spasticus tetraparesis, flexiós contracturák, súlyos somatomentális retardatio, epilepszia. EEG-vel detektált középvezetési és jobb féltekei epileptiform jelek. Koponya MRI-n periventricularis leukomalacia, pons-, és mesencephalon atrophia. RGI-C alapján RSS pontszám: 1/10. Rendkívül alacsony szérumban ALP érték (-2SD a nem-, és életkor-specifikus átlaghoz képest). Szérumban PLP, valamint szérumban és vizeletben PEA emelkedett. Heterozigóta missense c.1374C>A (p.Asp458Glu) mutációt detektáltunk, melyet szakirodalmi adatbázisokban nem találtunk. Predikció alapján valószínűleg patogén variánsként minősített. A páciens tünetei és laborparaméterei javuló tendenciát mutatnak.

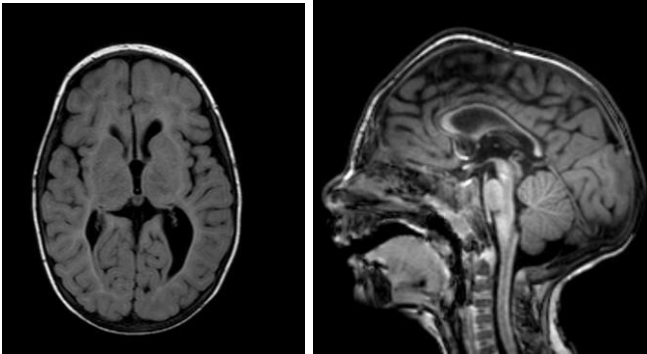
Konklúzió: A HPP diagnózisát klinikumon és az elvégzett vizsgálatok igazolták. Kórelőzményt és fenotípust tekintve a gyermekkori hypophosphatasia (HPPC) mérsékelt formáját igazoltuk. A betegség spektrum számos megválaszolható aspektust vet fel - enyhébb formák azonosítása, realworld adatokat tükröző új klinikai klasszifikáció, genotípus-fenotípus asszociációkat modifikáló genetikai faktorok azonosítása. Az ERT hatékony kezelés, azonban esszenciális hosszútávú adatok gyűjtésével klinikai evidenciák bővítése, az individuális dózis optimalizáció és a páciensek specializált centrumokban történő kanalizálása, multidiszciplináris nyomonkövetése.

A prezentációs előadást az Astra Zeneca Kft. támogatta.

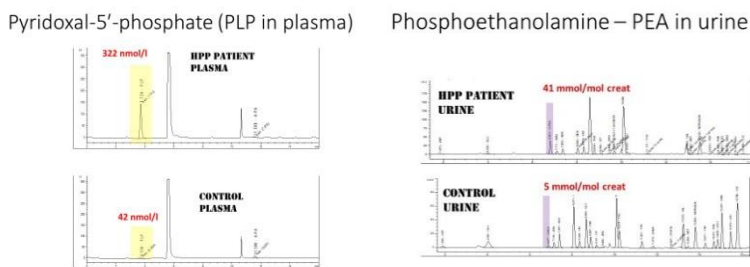
A szerzők kijelentik, hogy nincsenek egymással versengő vagy ellentétes érdekeik.



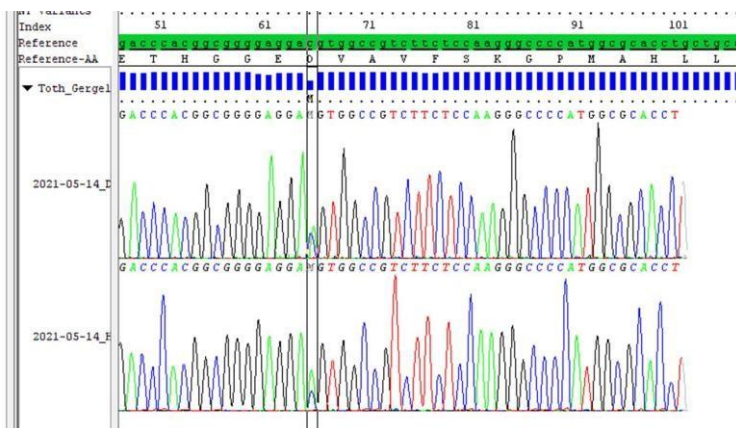
1. ábra a 10 éves Proband



2.a-b ábra: koponya MRI felvételek



2. c-d ábra: Biomarker eredmények



2.e ábra: Molekuláris genetikai vizsgálati eredmény (Sanger szekvenálás)

Referenciák:

1. OMIM <https://www.omim.org/entry/241510>
2. Tournis S et al. J ClinMed.2021 Dec; 10(23):5676.
3. Varsome database <https://varsome.com>

Diszlipidémia és hepatopátia- ami a háttérben állhat: lizoszómális savas lipáz hiány

Szabó Dolóresz

Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

Az autoszómális recesszív öröklésmentet mutató lizoszómális savas lipáz (LAL) hiány előfordulása ritka, 1:100 000-300.000. A *LIPA* gén mutációjának következtében a LAL enzim működése zavart szenved, mely következtében a lizoszómákban koleszterin észter és triglicerid szaporodik fel.

A csecsemőkorban induló formában (Wolman-betegség) rapidan progrediáló májbetegség alakul ki, mely általában egy éves életkor előtt halálhoz vezet. A gyermek- és felnőttkori formára a lassabb progresszió jellemző. A fokozatosan lerakódó triglicerid és koleszterin észter hatására zsírmáj, majd hepatomegalia, májfibrosis és végül májcirrhosis alakul ki. A betegek túlnyomó többségénél több szervet érint a betegség. A hepatikus tüneteken kívül splenomegalia, cardiovascularis szövődmények, dyslipidaemia és gasztro-intesztinális tünetek is jelentkezhetnek. A diagnózis felállításában nagy segítséget nyújt a szárított vércseppből elvégezhető enzimaktivitás mérés, csökkent enzimműködés esetén pedig a *LIPA* gén célzott vizsgálata. A betegség kezelésére elérhető enzimpótló terápia a sebelipase-alfa.

A nem specifikus tünetek és ritka előfordulás miatt a LAL deficiencia diagnózisának felállítása nagy kihívást jelent a klinikusok számára, emelkedett transzamináz értékek, hepatomegalia, szérumlipid eltérések esetén gondoljunk rá.

A Duchenne típusú izomdystrophia kezelési lehetőségei

Grosz Zoltán

Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete

A Duchenne-féle izomdystrophia az egyik leggyakoribb fiúkat érintő neuromuscularis betegség, ami gyermekkori tünetkezdés után súlyos izomgyengeséget, kerekesszékhez kötöttséget, cardiorespiratorikus érintettséget, majd ezek következtében rövidült élettartamot eredményez. A dystrophin génjét érintő frameshift v. nonsense mutációk csonkolt, dysfunkcionális dystrophin fehérje képződését eredményezik. A betegség kezelési lehetőségei hosszú időn át multidiscplináris supportív therápiára korlátozódtak. Az utóbbi évek biotechnológiai fejlődése kapcsán számos DNS és RNS szinten beavatkozást kínáló készítmény jutott klinikai vizsgálati stádiumba, majd kapott alkalmazási engedélyt. Ide tartozik a kis molekulák csoportjába tartozó, nonsense mutációk átolvasását (read-through) végző ataluren, az exon-skipping antisense oligonucleotid etplirsén és golodirsén, valamint a mikro-dystrophin génterápia. Előadásomban a kezelési lehetőségek áttekintését ismertetem.

A gyermekkori SMA nuszinerszen kezelésének hazai tapasztalatai

Merő Gabriella

Debreceni Egyetem, Gyermekklinika

A Spinalis Izomatrófia (SMA) egy ritka, progresszív izomgyengeséggel járó betegség. Incidenciája világszerte 1:6000-1:10000 . Hazánkban évente 10-15 új eset várható . A természetes lefolyása, súlyossági foktól függően (SMA 0- IV) változó, érintheti a bulbaris és légzőizmokat, így korai elhaláláshoz vezet illetve a legenyhébb formákban felnőtt korig is járóképesek maradhatnak a betegek. Az új terápiák bevezetésével a betegség természetes lefolyása lényegesen megváltozott. Az FDA 2016- ban , az EMA 2017 május 30.-án hagyta jóvá a nuszinerszent , Magyarországon 2018 óta van lehetőség nuszinerszen kezelésre. Kezdetben a SE II. sz Gyermekklinikán és a MRE Bethesda Gyermekkórházban nyílt lehetőség a kezelésre, majd 2020 januártól a Pécsi Egyetem és a nyíregyházi JAMK Gyermekosztálya, 2021-ben pedig a Debreceni illetve Szegedi5 Egyetem is csatlakozott az ellátókhoz.

Előadásomban az elmúlt öt év nuszinerszennel kezelt betegeink eredményeit szeretném bemutatni.

A Leber-féle öröklődő optikus neuropátia (LHON) és a LHON-szerű fenotípus ritka genetikai variánsai

Szabó Viktória^{1,2}

¹ *Semmelweis Egyetem, Szemészeti Klinika, Budapest*

² *Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest*

Chiesi cég által felkért, szponzorált előadás

A Leber-féle öröklődő optikus neuropathia (LHON, OMIM #535000) az egyik leggyakoribb hereditár látóideg betegség, amely bilaterális centrális látásvesztéssel jár.

Az LHON előfordulása 1:31000-1:54000 között mozog, túlnyomórészt férfiakat érint (az esetek 80-90%-ában), a tünetek jellemzően az élet 2. és 3. évtizede között jelentkeznek. A második szem érintettsége átlagosan 4-6 héttel követi az első szem látásromlását. A betegség leggyakrabban mitokondriális DNS-t érintő missense pontmutációk következménye: az esetek 90%-ában a légzési lánc I. komplexének alegységeit kódoló mtDNS primer mutációi – az mt.3460G>A (ND1), mt.11778G>A (ND4) és az mt.14484T>C (ND6) - állnak a hátterében.

Előadásomban szeretném bemutatni a ritka mtDNS variánsokat, illetve az autoszomális recesszív nukleáris génvariánsok okozta LHON-szerű fenotípust (arLHON-like phenotype). A *DNAJC30*, *NDUFS2* és *MCA1* gének kóroki szerepét az utóbbi években írták le.

Az LHON a retina belső rétegeiben elhelyezkedő ganglionsejtek mitokondriumainak megbetegedése, azonban egyes betegeknél megfigyelhetők egyéb klinikai tünetek, például mozgászavarok, dystonia, szklerózis multiplex és pszichiátriai problémák, melyek a „LHON plus” betegséggyűjtést alkotják. Differenciáldiagnosztikai szempontból lényeges a neuromyelitis optica (NMO, Devic-kór), illetve a myelin oligodendrocyta glikoprotein-antitest-betegségtől (MOGAD) való elkülönítése.

Az LHON klinikai gyanúja esetén ajánlott a teljes mtDNS szekvencia elemzése a ritka mtDNS kóroki variánsainak azonosítására, negatív eredmény esetén javasolt a mitokondriális funkciót kódoló nukleáris gének szekvenálása.

Genodermatózisos diagnosztikai és terápiás perspektívái

Medvecz Márta^{1,2}

¹ *Semmelweis Egyetem, Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, Budapest*

² *ERN-SKIN, Budapest*

Az örökletes bőrgyógyászati betegségek (genodermatózisos) heterogén csoportját a változatos klinikai tünetek spektrumának megfelelően szerteágazó genetikai háttér jellemzi. Multidiszciplináris ellátásuk magas szintű komplexitást igényel, mivel a betegek életminősége nagyfokban romlik, egyes formái letálisak.

A Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika a ritka bőrgyógyászati betegségek európai referencia hálózatának (ERN-SKIN) tagja. Centrumunk az alábbi tematikus munkacsoportokban akkreditált: ichthyosis és palmoplantaris keratoderma; örökletes epidermolysis bullosa és bőrfragilitási szindrómák - Darier betegség - Hailey-Hailey betegség; mendeli kötőszöveti betegségek; emellett ectodermalis dysplasiák, neurocutan szindrómák, örökletes tumorszindrómák, tárolási betegségek dermatológiai manifesztációit gondozzuk.

A genodermatózisos terápiás modalitásainak köre bővül, nagyszámú gén-, sejt- és fehérjeterápia, valamint további „újragondolt” gyógyszerek preklinikai és klinikai terápiás vizsgálata zajlik világszerte. Az *ex vivo* bőrbioptizás minták elemzése a fénymikroszkópián túl a nem-lineáris optikai képalkotó technológiák alkalmazásával a diagnosztika új iránya. Az *in vivo* vizsgálatok közül a dermatoszkópia és a multispektrális képalkotás alkalmazása a terápia hatékonyságának objektívebb követését segíthetik a jövőben.

Támogatás: NKFI FK_19-131916 (MM).

Cerebrotendinosus Xanthomatosis (CTX) 2023: lehetőségek, célok és eredmények

Varga Noémi Ágnes, Balicza Péter, Molnár Mária Judit
Semmelweis Egyetem Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete

A cerebrotendinosus xanthomatosis (CTX) egy olyan ritka, örökletes, neurodegeneratív betegség, amelyet a CYP27A1 gén által kódolt sterol 27-hydroxylase enzim elégtelen aktivitása okoz. Emiatt csökken a CDCA szint, illetve kóros anyagcseretermékek halmozódnak fel, mint a cholestanol és egyéb oxiszterolok. A betegség prevalenciája 3-5/100.000-re tehető. Jelenleg egyetlen betegség módosító kezelés a kenodezoxikólsav (CDCA), mely a tünetek progresszióját lassítani képes.

Intézetünk négy férfi CTX-es beteget gondoz. Betegségekre jellegzetes tüneteik $20,5 \pm 10$ évesen jelentkeztek, diagnózis felállításának átlagideje 33 ± 11 év volt. A fiatalkori cataracta, illetve xanthomák jelenléte a betegek 50%-ban volt észlelhető. A vezető tüneteik a kognitív hanyatlás, pszichiátriai tünetek, polyneuropathia, cerebellaris ataxia voltak. A koponya MRI-n minden betegnél volt szimmetrikus supratentoriális fehérállományi T2 jelintezfokozódás, kettő beteg esetében a nucleus dentatusok területén és kisagyi féltekékben is. Az emelkedett cholestanol szint indikálta a genetikai vizsgálatot, mely minden esetben alátámasztotta a diagnózist. A CDCA pótlás negatív-feedback során mérsékli a cholestanol szintjét. A betegeink átlagosan 38 ± 25 hónapja részesülnek CDCA kezelésben. A kezelés hatására a cholestanol szint tartósan, illetve 1 beteg esetében átmenetileg normalizálódott. Klinikai szempontból a kezelés mellett a polyneuropathias tünetek stagnálása volt észlelhető. SARA pontszámuk (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) a kezelés hatására nem változott. Egy beteg kivételével a kognitív funkcióikban sem jelentkezett további progresszió. A kezelés eredményessége nagymértékben függ a diagnózis felállításának idejétől és kezelés megkezdésének az idejétől.

Azokban az esetekben melyekben a megkezdett CDCA kezelés nem minősül kellőképpen hatásosnak a dózisévelés mellett további alternatív kezelés célpont meghatározása válhat szükségessé. Ilyen további kezelési célpontok, mint az enzimpótló kezelés, illetve a génterápia melyek jelenleg fejlesztés alatt vannak.

A lipodystrophia szindrómák genetikai háttere

Juhász Éva¹, Szakszon Katalin¹, Nagy Orsolya², Koczok Katalin², Bessenyei Beáta²,
Balogh István²

¹ DEKK Gyermekgyógyászati Intézet

² DEKK Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék

A lipodystrophia szindrómák (LS) a betegségek klinikailag és genetikailag heterogén csoportját alkotják, amelyet a zsírszövet elvesztése jellemez. Ezek a szindrómák általában metabolikus szövődményekkel járnak, amelyek meghatározóak a morbiditás és a mortalitás szempontjából. Az LS klasszikus formái közé tartoznak a részleges, generalizált és progeroid lipodystrophiák. Továbbá megkülönböztetünk congenitalis és szerzett formákat is. Általában az adipogenezisben és a zsírsejtek működésében kulcsszerepet játszó fehérjék hibáira vezethetők vissza. Eddig több mint negyven gén hibáját írták le a LS monogénes formáiban.

Előadásunk során egy 14 éves diabetes gyanújával érkező gyermek végleges klinikai illetve genetikai diagnózisához vezető utat mutatjuk be. Klinikusként fontos, hogy időben gondoljunk a kórképre, mint például a jelen bemutatandó eset kapcsán is, ahol testsúlyához viszonyítva igen nagy napi inzulinigény (180-200 E/nap) ellenére sem javuló szénhidrát anyagcserezavar uralta a klinikai képet és terelte gondolatainkat az LS lehetősége felé. Továbbá fontos a jellemző fenotípus ismerete, és annak keresése is kulcsfontosságú, melyet egyes esetekben szintén nem könnyű azonosítani.

A Debreceni Egyetemen példaértékű szoros, mindennapi együttműködés a klinikai genetikusok, klinikusok és kutatók között elengedhetetlen volt ezen eset kapcsán is, és lesz is a jövőben is, hiszen ezáltal gyors előrelépést lehet elérni ezen betegségek molekuláris alapjainak megértésében, valamint a személyre szabott hatékony terápia megvalósításában.

A non-invazív prenatális tesztelés során azonosított ritka kromoszómális eltérések átfogó elemzése

Gál Anikó^{1,2}, Kónya Márton^{1,2,3}, Várhegyi Vera^{1,2}, Búzás Rebeka², Vető Borbála², Tidrenczel Zsolt²

¹ *Genomikai Medicina és Ritka Rendellenességek Intézete, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország*

² *Czeizel Intézet, Budapest, Magyarország*

³ *Transzlációs Medicina Központ, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország*

A teljes genomra kiterjedő non invazív prenatális teszt (genomewide NIPT) a gyakori aneuploidiák hatékony kimutatásán túl a ritka magzati kromoszóma-rendellenességek korai szűrésére is alkalmas. Az NIPT vizsgálatok során kapott eredmények egy része lepényi eltérés, másik részben pedig valós, a magzatot érintő genetikai rendellenesség. Az igazolt placentális mozaikos eseteknél jelentősen megemelkedik a méhen belüli magzati retardáció, a lepényi elégtelenség, a koraszülés és a praeclampsia esélye. Néhány esetben az NIPT vizsgálat során több kromoszómális szakaszt érintő multiplex kromoszómális átrendeződést találunk, amely háttérben többek közt az anyai malignitás is állhat.

Előadásunkban a legfrissebb nemzetközi adatok alapján áttekintjük a ritka autoszómális triszómiák jelentőségét, valamint beszámolunk a Czeizel Intézet PrenGenetics Laboratóriumában 2020 január és 2022 november között végzett magyarországi NIPT vizsgálatok eredményeiről valamint a pozitív eseteink után követéséről. A gyakori aneuploidiákon (T21, T13, T18 és nemi kromoszómák eltérései) kívül a talált ritka kromoszómákat érintő eltérések 61%-a ritka autoszómális triszómia (RAT), 35%-a szerkezeti kromoszómaeltérés, 4%-ában multiplex, több kromoszómát érintő multiplex átrendeződés volt. A talált RAT-ok 18%-a volt amniocentézissel validálható volt, 13%-ban korai magzati elhalás alakult ki, 69%-ban pedig valószínűleg csak a lepényre korlátozódott az eltérés. A lepényi mozaikos kromoszómahibák több esetben koraszüléssel és méhen belüli magzati retardációval jártak. A szerkezeti eltérések 16%-a igazolódott a magzatban, a 4 multiplex eltérés normál magzatvíz vizsgálati eredménnyel járt.

A NIPT során kimutatott ritka kromoszómaeltérések megértése megkönnyíti a poszt-teszt genetikai tanácsadást. A lepényre korlátozódó esetben is fontos információt biztosítanak és jelentősen befolyásolják a terhesgondozás módját. E mellett az genomewide NIPT során kapott multiplex átrendeződések háttérben felmerül az anyai malignitás lehetősége, amely kivizsgálása komoly szakmai és etikai kihívást jelent.

Nemzeti Genom Program

Gyenesei Attila
Pécsi Tudományegyetem

A genetikai vizsgálatok szerepe a veleszületett vérzékenységek, különös tekintettel a thrombocytá rendellenességek diagnosztikájában

Bereczky Zsuzsanna^{1,2}, Gindele Réka^{1,2}, Kerényi Adrienne¹, Bagoly Zsuzsa^{1,2}, Orbán-Kálmánci Rita^{1,2}, Borsos Sarolta^{1,2}, Balogh Gábor²

¹Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék, Debrecen

A veleszületett vérzékenységek diagnosztikája számos nehézséget jelent. A vaszkuláris eredetű vérzékenységekben (pl. Osler-kór), ahol laboratóriumi vizsgálati lehetőségek nincsenek, a klinikai fenotípus alapján közvetlenül genetikai vizsgálatokat végzünk a diagnózis felállításához. A hemosztázis rendellenességek esetében a különböző funkcionális tesztek révén többnyire a diagnózis a genetikai vizsgálatok nélkül is felállítható. Vannak azonban olyan kórképek, amelyeknél differenciáldiagnosztikai problémák merülnek fel, vagy olyanok, ahol a laboratóriumi eszköztár korlátozott a végső diagnózis kimondásához. E problémás kórképek közé tartoznak a thrombocytá funkció zavarok. A mutáció detektálási ráta nagyon alacsony és ma is hiányosak az ismereteink mind a kandidáns génekre, mind azok mutációinak klinikai jelentőségére vonatkozóan. A Nemzetközi Thrombosis és Haemostasis Társaság (ISTH) Genetikai és Genomikai Munkacsoportja ajánlást fogalmazott meg a veleszületett vérzékenységek genetikai kivizsgálására és felhívta a figyelmet az adatgyűjtés fontosságára is.

Célul tűztük ki a thrombocytá funkció zavarok genetikai vizsgálatát jól karakterizált betegekben annak érdekében, hogy ahol lehet, végső diagnózist tudjunk felállítani, illetve, hogy adatokat gyűjtsünk az ISTH ajánlás alapján.

A hemosztázis laboratóriumunkba érkező betegek közül n=45 személyt választottunk ki, akiknél a klinikum és funkcionális tesztek alapján thrombocytá rendellenesség merült fel, de egyértelmű diagnózist e tesztek alapján nem lehetett adni. A genetikai vizsgálatokat új generációs szekvenálással (NGS), génpanel és klinikai exom szekvenálással, az interpretációt pedig az ACMG és az ISTH elvek szerint végeztük. A mutáció predikciós analízisek MutPred2, PolyPhen-2, SIFT, MutationTaster, VarSome és Franklin platformokon történtek.

Az NGS panel mutáció detektálási aránya 38% volt, de csak n=6 esetben lehetett diagnózist felállítani, a thrombocytá funkció zavar az NBEA, RASGRP2, GFI1B és STBXP2 génekhez volt köthető. A klinikai exom szekvenálással további n=15 betegnél jutottunk diagnózishoz 12 különböző génben azonosított eltérésekkel, köztük az ETV6, ill. a RUNX1 gének eltéréseivel, melyek a hematológiai malignitások fokozott kockázatával is járhatnak. Tudtunk diagnózist adni korábban ismeretlen eredetű vérzékenységeknek minősített esetekben, valamint új mutációkat írtunk le az ISTH által Tier 1 csoportba besorolt génekben.

PersonALL: komprehenzív kópiaszámeltérés profilozáson alapuló, koncepcionálisan új személyre szabott rizikóbecslő módszer gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában

Bedics Gábor¹, Egyed Bálint^{1,2}, Anne Benard-Slagter³, Karel de Groot³, Bekő Anna¹, Kriván Gergely⁴, Suvi Savola³, Bödör Csaba¹, Alpár Donát¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék, HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport Budapest*

² *Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest*

³ *MRC Holland, Amsterdam, Hollandia*

⁴ *Dél-pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Budapest*

Bevezetés, Célkitűzés

A gyermekkori akut limfoblasztos leukémia (ALL) genetikai háttere heterogén, ugyanakkor különböző kópiaszámeltérések (copy number aberration - CNA) kimutathatóak a betegek döntő többségében. A CNA-k egy része prognosztikus és/vagy prediktív értékkel bír, emiatt különböző CNA-alapú rizikóbecslő módszerek lettek kidolgozva. Munkacsoportunkban egy új-generációs szekvenáláson alapuló technikával, átfogó módon detektáltunk CNA-kat az ALL-ben visszatérő módon érintett génekben, egy jelentős nagyságú hazai betegkohortban, mely új, minden eddiginél átfogóbb CNA-alapú rizikóbecslő módszerek kidolgozását tette lehetővé.

Anyag és módszer

260 B-ALL-lel diagnosztizált hazai gyermek diagnosztizálási csontvelőmintáját vizsgáltuk meg digitális multiplex ligáció-függő szonda-amplifikációval (digital multiplex ligation-dependent probe amplification – dMLPA). A készített könyvtárakat Illumina MiSeq új-generációs platformon szekvenáltuk. A gyártó által készített szoftver segítségével határoztuk meg a szubkromoszómális és a számbeli kromoszóma kópiaszámeltéréseket. A validációs kohortba 606 beteg mintáját vontuk be az "Acute Lymphoblastic Leukemia Pilot Phase 1 (phs0000463), Expansion Phase 2 (phs000464) Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments - TARGET initiative" adatbázisból, mely mintákon teljes exom szekvenálást végeztek, melyből kópiaszám eltérés eredményeket hívtunk a CNVkit szoftver segítségével. A túlélési rátákat Kaplan-Meier módszerrel R-Studio 4.1.2 környezetben számítottuk.

Eredmények

A felfedező kohortban összesen 1400 kópiaszámeltérést detektáltunk a betegek 93,5%-ban. Az *IKZF1* gén exonon-szintű vizsgálata 10 különböző deléciós mintázatot eredményezett, melyek közül 3 csoport szoros összefüggést mutatott *IKZF1*^{plus} genotípussal. A citogenetikai eltérések alapján definiált prognosztikus csoportokat az *IKZF1* státusszal, kombináltuk, mely 3 betegcsoportot különített el, amelyek szignifikánsan különböző 5 éves eseménymentes túlélést mutattak. A "PersonALL" névre keresztelt koncepcionálisan új genetikai rizikóbecslő rendszerünk komprehenzív módon kombinál kópiaszámeltéréseket citogenetikai eltérésekkel, mely mind a felfedező-, mind a validációs, mind az összevont 866 fős kohortban 4, szignifikáns mértékben eltérő eseménymentes túléléssel jellemezhető csoportot definiált.

Következtetés

A dMLPA-val végzett átfogó CNA detektálás eredményeként egy jelentős nagyságú hazai gyermek ALL kohort, valamint egy szinte háromszoros betegszámot tartalmazó független validációs kohort számbeli kromoszómális, és szubkromoszómális kópiaszámeltérés-profilozását végeztük el. Két új genetikai rizikóbecslő módszert dolgoztunk ki, mely citogenetikai rizikócsoportokat kombinál (i) betegség-specifikus gének kópiaszámeltéréseivel, nagyobb hangsúlyt fektetve a szubkromoszómális CNA-kra, mint bármelyik korábban publikált módszer; illetve (ii) *IKZF1* státusszal. A kifejlesztett,

koncepcionálisan új PersonALL rizikóbecslő módszerrel gyorsan és hatékonyan különíthetjük el a betegeket eseménymentes várható túlélés mentén, mely korai terápiás döntések alapjául szolgálhat.

Optikai genomterképezés alkalmazása akut leukémiák vizsgálatában: a digitális citogenomika bevezetésével szerzett első hazai tapasztalatok

Bekő Anna, Csonka Katalin, Bohusné Barta Bettina Aranka, Hegyi Lajos, Alpár Donát, Bödör Csaba

Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék, HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Budapest

Bevezetés, célkitűzés: A hematológiai malignitások diagnosztikájában a korszerű molekuláris módszerek mellett még mindig meghatározó szerepet tölt be a kromoszómák strukturális variánsainak (SV) és kópiaszám eltéréseinek (copy number variations, CNV) vizsgálata kariotipizálással, illetve Fluoreszcens In Situ Hibridizációval (FISH). Az Optikai Genomterképezés (Optical Genome Mapping, OGM) egy új-generációs citogenomikai módszer, mellyel sejtenyésztes nélkül, 5 nap alatt CNV-eket és 500 bp-nál nagyobb SV-eket egyidejűleg azonosíthatunk.

Célul tűztük ki az akut leukémiákban megjelenő kromoszóma aberrációk detektálását OGM alkalmazásával.

Anyag, módszer: 35 akut myeloid leukémiás (AML) diagnózis, vagy relapszuskori és 2 krónikus myeloid leukémiás eset blasztos krízisének idején vett mintájából ultra-nagy molekulásúlyú DNS-t izoláltunk, majd fluoreszcensen jelöltük. Az így előkészített DNS molekulákról a Saphyr készülék (Bionano, San Diego, USA) optikai rendszerével gyűjtött adatokat a Bionano Access szoftverben elemeztük: az SV-eket standard és AML specifikus filterezést követően, a >5000kb hosszúságú CNV-eket további szűrés nélkül írtuk le. Az OGM adatait a hagyományos módszerek eredményeivel hasonlítottuk össze.

Eredmények: A 37 mintában OGM-el összesen 70 kópiaszám eltérést, a standard filterezéssel 643, míg az AML-specifikus szűrővel 84 SV-t detektáltunk. 29 esetben történt kariotipizálás és/vagy FISH, közülük 13 AML-est soroltunk a 2022-es ELN rizikóbesorolás alapján prognosztikai csoportokba, míg az OGM eredményei szerint 19 beteg került besorolásra. A hagyományos módszerek eredményei alapján 11, míg az OGM szerint 18 beteget sorolhattunk a 2022-es WHO klasszifikációban megjelenő alcsoportokba. Az OGM alkalmazásával 15 betegnél azonosítottunk komplex kariotípust, mely két esetben a hagyományos módszerekkel meghatározott intermedier prognosztikai besorolást kedvezőtlenre módosította. Ezen felül 3-3 esetben detektáltuk az intermedier prognózissal társuló *KMT2A* parciális tandem duplikációt, valamint a kedvezőtlen prognózissal társuló *MECOM* génátrendeződést.

Következtetés: Az OGM alkalmazása lehetővé teszi a hagyományos technikákkal azonosított eltérések mellett további, klinikailag releváns aberrációk kimutatását, mindezek fényében a rutin diagnosztikában is alkalmas vizsgálati módszernek ígérkezik.

Támogatók: FK20_134253, K21_137948, BO/00125/22, ÚNKP-22-5-SE-7, ÚNKP-22-3-II-SE-21, H2020 (SGa no.: 739593), EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, KDP-2020-1008491, NKFIH-TKP-EGA24, NKFIH-TKP-NVA15, Elixir Hungary, Richter Gedeon Talentum Alapítvány

A szubklonális *TP53* mutációk előfordulása és klinikai relevanciája krónikus limfocitás leukémiában

László Tamás¹, Kotmayer Lili¹, Hegyi Lajos¹, Gróf Stefánia¹, Kajtár Béla³, Demeter Judit⁴, Farkas Péter⁵, Masszi Tamás⁵, Nagy Zsolt⁵, Balogh Alexandra⁵, Istenes Ildikó⁴, Szász Róbert⁶, Gergely Lajos⁶, Sulák Adrienn⁷, Borbényi Zita⁷, Lévai Dóra⁸, Schneider Tamás⁸, Szaleczky Erika⁸, Pettendi Piroska⁹, Szerafin László¹⁰, Rejtő László¹⁰, Batai Árpád¹¹, Dömötör Mária Ágnes¹¹, Plander Márk¹², Szendrei Tamás¹², Ilonczai Péter¹³, Hamed Aryan¹⁴, Lázár Zsolt¹⁴, Pauker Zsolt¹⁵, Kiss Adrienn¹⁶, Körösmezey Gábor¹⁶, Jakucs János¹⁷, Dombi János Péter¹⁸, Bors András¹⁹, Andrikovics Hajnalka¹⁹, Egyed Miklós², Székely Tamás¹, Masszi András^{5,8}, Matolcsy András^{21,20}, Alpár Donát¹, Bödör Csaba¹

¹ Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék, HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Budapest

² Somogy Megyei Kaposi Mór Oktató Kórház, Kaposvár

³ Patológiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

⁴ Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

⁵ Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

⁶ Hematológiai Osztály, Belgyógyászati Intézet, Debreceni Egyetem

⁷ II. számú Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

⁸ Országos Onkológiai Intézet, Budapest

⁹ Jász-Nagykun-Szolnok Megyei Hetényi Géza Kórház-Rendelőintézet, Szolnok

¹⁰ Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Kórházak és Egyetemi Oktatókórház, Nyíregyháza

¹¹ Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház, Székesfehérvár

¹² Markusovszky Egyetemi Oktatókórház, Szombathely

¹³ Markhot Ferenc Kórház, Eger

¹⁴ Petz Aladár Egyetemi Oktató Kórház, Győr

¹⁵ Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Központi Kórház és Egyetemi Oktatókórház, Miskolc

¹⁶ Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Budapest

¹⁷ Békés Megyei Központi Kórház, Gyula

¹⁸ Szent Borbála Kórház, Tatabánya

¹⁹ Dél-pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Budapest

²⁰ Karolinska Intézet, Patológiai Részleg, Laboratóriumi Medicina Intézet, Solna, Svédország

²¹ Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

Bevezetés: A *TP53* eltérés (*TP53* mutáció és/vagy del(17p)) a króniku limfocitás leukémia kiemelt prognosztikus valamint prediktív biomarkere. A szubklonális *TP53* mutációk (a mindennapi gyakorlatban a 10%-alatti variáns allélfrekvenciával rendelkező mutációkat soroljuk ide) klinikai jelentősége azonban jelenleg is intenzív kutatások tárgyát képezi.

Célkitűzés: Tanulmányunkban célul tűztük ki a szubklonális *TP53* eltérések gyakoriságának, valamint klinikai hatásainak vizsgálatát egy hazai „real-world” betegkohortban.

Módszer: 901 CLL-es beteg csontvelő vagy perifériás vérmintáját gyűjtöttük össze, 20 hazai onkohematológiai centrumból. A *TP53* mutációkat újgenerációs szekvenálással (NGS), míg a 17p kromoszómaregió delécióit fluoreszcens in situ hibridizációval vizsgáltuk. A szubklonális mutációkat minden esetben validálásra kerültek egy alternatív NGS panel, vagy droplet digitális PCR alkalmazásával.

Eredmények: A betegek 17,6%-ában összesen 226 *TP53* mutációt azonosítottunk. A klonális mutációk az eltérések 49%-át képezték, míg 51% szubklonális *TP53* mutációnak bizonyult. A szubklonális mutációk mint egyedüli eltérések az esetek 39%-ában voltak kimutathatóak. A szubklonális *TP53* eltérést hordozó betegek döntő többsége (78%) 17p deléció nélkül jelentkezett, ennek megfelelően, ezek az esetek a jelenlegi ERIC irányelvek alapján, a kezelés szempontjából vad típusú *TP53*-nak felelnének meg. Eredményeink alapján a klonális és/vagy szubklonális *TP53* mutációt hordozó betegek szignifikánsan korábban szorultak kezelésre, mint a vad típusú *TP53*-al rendelkező betegek (klonális vs vad típusú *TP53*: $p < 0.0001$; szubklonális vs vad típusú *TP53*: $p = 0.0031$). A validáció során, a

szubklonális *TP53* variánsokat a vizsgált esetek 81.1 %-ban (116/143) sikerült megerősítenünk. Az 5-10% közötti VAF értékkel rendelkező mutációkat 100%-ban (n=38), míg az 5%-alatti VAF-val rendelkező *TP53* mutációkat az esetek mindössze 74.3%-ban sikerült validálnunk.

Megbeszélés: Tanulmányunkban feltérképeztük a szubklonális *TP53* mutációk előfordulásának gyakoriságát, összetételét, valamint klinikai hatását egy nagyszámú hazai betegcsoportban. Eredményeink alapján az önálló szubklonális eltérések a *TP53* mutációt hordozó betegek több mint harmadát képviselik, valamint kedvezőtlen prognosztikus hatással bírnak, ezáltal indokolt lehet a jelenleg alkalmazott 10%-os küszöbérték újragondolása a rutindiagnosztikai alkalmazásban.

Támogatók: H2020 (SGa no.: 739593), NKFIH-TKP-EGA24, NKFIH-TKP-EGA24, NKFIH-TKP-NVA15, Elixir Hungary

A *TP53* gén molekuláris genetikai és *in silico* fehérje vizsgálata MDS-ben és AML-ben

Madarász Kristóf¹, Mótyán János András², Bedekovics Judit¹, Miltényi Zsófia³, Ujfalusi Anikó⁴, Méhes Gábor¹, Mokánszki Attila¹

¹ Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Patológia Intézet, Debrecen

² Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen

³ Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Hematológiai Tanszék, Debrecen

⁴ Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Debrecen

A *TP53* gén mutációja a myelodisplasiás neoplasiák (MDS) és a myelodisplasiával-asszociált akut myeloid leukémia (AML-MR) egyik fő kiváltó oka. Az ezekben a vérképzőszervi malignitásokban előforduló *TP53* mutációk egy különálló molekuláris genetikai klasztert alkotnak, amely rosszabb prognózissal jár, mint ezen változás nélkül. A jól jellemzett hot-spot-variánsok mellett azonban a *TP53* változások jelentős része bizonytalan klinikai jelentőségű.

A vizsgálat céljai a következők voltak: (i) MDS és AML-MR csontvelőminták klonális heterogenitásának vizsgálata *TP53* génmutációs státusz alapján, (ii) a mutációs státusz és a vérképzőszervi betegségek súlyossága közötti összefüggés megállapítása, valamint (iii) a p53 fehérje mutációk hatására bekövetkező funkcionális változásainak *in silico* vizsgálata.

Összesen 77 beteg csontvelőmintáit elemeztük retrospektív módon, akiknél a WHO 2022-es iránymutatásai szerint AML-MR, MDS fokozott blaszt arányú (MDS-IB) és MDS alacsony blaszt arányú (MDS-LB) diagnózist állítunk fel. Ebből a célból a szövettani vizsgálatot követően a *TP53* gént célzó NGS-analízist végeztünk.

Az NGS által kimutatott 30 *TP53* mutációtípusból húszat nem kategorizáltak a jelenlegi nyilvános adatbázisokban; így klinikai jelentőségük ismeretlen. Az értelmezési nehézségek és a klinikai összefüggések hiánya miatt a patogenitást *in silico* módszerekkel állapítottuk meg. A megvizsgált, eddig bizonytalan *TP53* eltérések a modellezés során az ismert patogén variánsokkal egyező tulajdonságokat mutattak 12 patogenitást pontozó rendszer, a prediktált fehérje-DNS és fehérje-fehérje kölcsönhatások tekintetében. Statisztikailag szignifikáns különbségeket találtunk az AML/MDS csoportok között a p53 patogenitást, a fehérje szerkezeti változásokat és a teljes túlélést tekintve. A legnagyobb számú, legsúlyosabb következményekkel járó eltérést az AML-MR-esetekben találtuk.

Ezek a molekuláris és *in silico* fehérjeadatok tovább alá támasztják, hogy az MDS-IB egy átmeneti csoport az AML-MR és az MDS-LB betegek között, amely gyakran fejlődik AML-be, és ezért preleukémiás állapotnak tekinthető. Az egyes, nem egyértelmű klinikai jelentőségű mutációk *in silico* modellezéssel tovább értékelhetők, lehetővé téve a patogenitásuk megítélését.

Molekuláris alcsoport-klasszifikáció diffúz nagy B-sejtes limfómában: A hazai DLBCL molekuláris profilozás program első eredményei

Varga Luca¹, Bátai Bence¹, László Tamás¹, Bedics Gábor¹, Udvari Anna¹, Illyés Gabriella², Király Péter Attila², Rottek János², Schneider Tamás², Kovács Szilamér³, Szendrei Tamás³, Plander Márk³, Sashalmi Soma⁴, Sánta Hermina⁴, Bátai Árpád⁴, Bicskó Réka⁵, Gergely Lajos⁵, Czibere Bernadett⁶, Rejtő László⁶, Gurbity-Pálfi Tímea⁷, Borbényi Zita⁷, Weisinger Júlia⁸, Nagy Zsolt⁸, Masszi Tamás⁸, Simon Zsófia⁹, Ritter Zsombor¹⁰, Papp László¹¹, Tóth Erika¹², Mózes Réka¹³, Szepesi Ágota¹³, Csomor Judit¹³, Matolcsy András¹³, Timár Botond^{1,13}, Alpár Donát¹, Masszi András², Bödör Csaba¹

¹ HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

² Országos Onkológiai Intézet, Hematológia és Lymphoma Osztály, Budapest

³ Markusovszky Kórház, Haematológiai és Haemosztazeológiai Osztály, Szombathely

⁴ Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Hematológia, Székesfehérvár

⁵ Debreceni Egyetem, Belgyógyászati Klinika, Debrecen

⁶ Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Jósza András Oktatókórház Hematológia, Nyíregyháza

⁷ Szegedi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika, Szeged

⁸ Semmelweis Egyetem, III.sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

⁹ Szent Borbála Kórház Haematológia, Tatabánya

¹⁰ Pécsi Tudományegyetem Nukleáris Medicina Tanszék, Pécs

¹¹ Medical University of Vienna, Center for Medical Physics and Biomedical Engineering, Bécs

¹² Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Budapest

¹³ Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

A diffúz nagy B-sejtes lymphomás (DLBCL) betegek kétharmadánál az elsővonalbeli kezeléssel gyógyulás érhető el, azonban a fennmaradó esetekben rosszul kezelhető relabáló/refrakter DLBCL alakul ki, melyért részben a DLBCL háttérében álló molekuláris heterogenitás tehető felelőssé. Ennek feloldását teszik lehetővé az új, multiplex genetikai eltéréseken alapuló klasszifikációs rendszerek. Kutatócsoportunk célkitűzése, hogy egy prospektív, obszervációs kutatás keretében vizsgáljuk a legújabb molekuláris klasszifikációs algoritmusok alkalmazhatóságát és prognosztikus jelentőségét DLBCL-ben.

Munkánk során létrehoztuk a saját fejlesztésű 'SU-DLBCL Predictor' génpanelt, mely 251 gén, 4 transzlokációs töréspont (*BCL2*, *BCL6*, *MYC*, *PD-L1*) és a kópiaszám eltérések genom szintű vizsgálatát teszi lehetővé. Huszonnégy DLBCL-es beteg diagnóziskori szövetmintájából végeztük el a vizsgálatot e panel alkalmazásával. Az egyedi SureSelect XTHS2 (Agilent, USA) pannellel történő könyvtár preparálást követően a mintákat NextSeq2000 (Illumina, USA) platformon szekvenáltuk meg, majd az adatokat az általunk összeállított bioinformatikai „pipeline” és a LymphGen klasszifikációs algoritmus segítségével értékeltük.

A 24 vizsgált mintában medián 19 (min: 9, max: 71) kódoló variánst azonosítottunk, melyek leggyakrabban a *KMT2D* (42%), *CARD11* (42%), *HIST1H1E* (33%), *FAT4* (38%), és *TP53* (46%) géneket érintették. Két betegnél mutattunk ki *BCL6* transzlokációt, míg a kópiaszám eltérések közül kiemelendők a *MYC* (25%), *BCL2* (42%), *BCL6* (46%) géneket érintő amplifikációk, valamint a *TP53* gén (21%) deléciói. Az eltérések alapján a LymphGen algoritmusmal az esetek 4%-a N1, 8%-a MCD, 12%-a A53, 4%-a MCD/A53, 13%-a BN2, 8%-a EZB, 13%-a ST2, míg 38%-a az Egyéb kategóriába került besorolásra.

Hazánkban elsőként sikeresen optimalizáltuk a DLBCL klasszifikációjára alkalmas vizsgálati algoritmust, mellyel 24 minta esetében az előzetes eredmények mind a gyakori eltérések, mind pedig az alcsoportok megoszlása terén átfedést mutatnak az irodalmi adatokkal. A továbbiakban a betegek mintáit a beállított algoritmusnak megfelelően elemezzük a vizsgálatban.

Támogatók: A kutatás finanszírozásához az NKFIH KDP-1022882, EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, ÚNKP-21-3-II-SE-24, ÚNKP-22-5-SE-7, ÚNKP-22-3-II-SE-72, H2020-739593, K21_137948, TKP2021-EGA-24, TKP2021-NVA-15, FK20_134253, az MTA Bolyai program BO/125/22 és az Elixir Hungary azonosítójú pályázatok járultak hozzá.

Ritka „örökség-e” a herediter hematológiai malignitás?

Tankó Lenke¹, Varga Lívია¹, Csabán Dóra¹, Órfi Zoltán¹, Bors András¹, Harasztombi József², Dolgos János², Reichardt Judit², Koller Beáta², Fábián János², Várkonyi Andrea², Lakatos Viktor², Gopcsa László², Reményi Péter², Vályi-NagyIstván², Andrikovics Hajnalka¹

¹*Dél-pesti Centrumkórház (DPC), Molekuláris Genetika Labor, Budapest*

²*DPC, Hematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály, Budapest*

A daganatszindrómák vagy genetikai betegségek malignus szövődményei a szolid tumorok akár 5-15%-át is adhatják. A legismertebbek az emlő- és petefészek rák, valamint a vastagbél rák veleszületett hajlamosító tényezői. A ritkának tartott hematológiai herediter malignitásokról (HHM) úgy vélték, hogy főleg gyermekkorban fordulnak elő. A germinális eredetű HHM-ek mutációinak penetranciája kevésbé ismert, a tünetek súlyossága változó. A hordozók életen át tünetmentesek maradhatnak, míg másoknál enyhe trombocitopénia, vagy más típusú daganat, akár több szervrendszert érintő szindróma is kialakulhat.

Laboratóriumunkban 346 MHTT Onkohematológiai Molekuláris Diagnosztikai Munkacsoportja által tervezett myeloid génpanel vizsgálatot végeztük új generációs szekvenálással, amelyből 8 esetben igazoltunk veleszületett HHM patogén mutációt [3%, DDX41 (n=2 MDS, n=1 AML), RUNX1 (n=1 ALL, n=2 AML), TP53 (n=1 ALL), PTPN11 (n=1 PDGFRA-pozitív HES)]. A csírvonal eredetre utalt az 50% körüli variáns allél frekvencia, amely remisszióban is perzisztált. A hajhagyma és a családtagok vizsgálata megerősítette a mutáció veleszületett jellegét. A DDX41 pozitív betegek kivételével (életkor diagnóziskor: 60-69 év) a HHM betegek fiatal felnőttek (életkor diagnóziskor: 17-49 év), akiknek sem egyéni, sem családi anamnézisében nem volt malignus megbetegedés. A csírvonal eredetű HHM az ismeretlen penetrancia miatt aluldiagnosztizált. Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy nemcsak gyerek és fiatal felnőttkori, hanem idősebb korban is felmerülhet a HHM. A HHM felismerése terápiás jelentőséggel bír, mivel befolyásolhatja a beteg és a tünetmentesen azonosított családtagok követését, valamint a családi donorválasztást.

mhgt



MAGYAR
HUMÁNGENETIKAI
TÁRSASÁG

POSZTER ELŐADÁSOK

P-01

A klinikai teljes genom szekvenálás alkalmazásának bemutatása egy leukodisztrófiás beteg esetében

Árvai Kristóf¹, Kósa János^{2,3}, Pikó Henriett², Illés Anett², Tobiás Bálint³,
Balla Bernadett^{2,3}, Lakatos Péter^{2,3}

1 Semmelweis Egyetem Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

2 Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Budapest

3 ELKH-SE ENDOMOLPAT Munkacsoport, Budapest

A hipomielinizáló leukodystrophiák a fejlődési rendellenességek egy olyan heterogén csoportja, amelyek befolyásolják a mielinhüvely megfelelő kialakulását a központi idegrendszerben. Fejlődési elmaradás, hipotónia, spasticitás és értelmi fogyatékoság jellemzi az ilyen betegeket.

A beteg leánygyermeknek a magzati élet 25. héten észlelték a két oldalkamrai tágulatot, illetve a bal oldalkamra folyadékkal telt, vastagfalú képletét. A két hónapos korában elvégzett MRI vizsgálat a mielinizáció homogén hiányát írta le.

Génpanel vizsgálat azonosította a RARS1 génben található, heterozigóta c.1863_1866del frameshift mutációt, mely egy trunkált fehérje keletkezését okozza. A RARS1 gén funkcióvesztő mutációiról ismert azok patogenitása, így a talált eltérés valószínűleg patogén besorolást kapott. A kapcsolt fenotípus autoszómális recesszív módon öröklődik, így a diagnózis hiányos maradt. Ezt követően az érintett gyermek mintájából WES vizsgálat történt, mely nem adott jobb találatot. Az édesanya ismét várandós lett és a szoros ultrahangos követés a terhesség 24. hetén nagyon hasonló neurológiai eltérést jelzett. Ezután a teljes család exom-szekvenálása is megtörtént, diagnosztikus szempontból szintén sikertelenül. A klinikumhoz jól illeszkedett a RARS1 mutáció, ezért a várható interpretációs nehézségek ellenére, WGS készült a betegből.

Ennek során azonosításra került a RARS1 génben a heterozigóta c.370-26A>G intronikus variáns, mely nem fordul elő az európai népesség körében. A nem-kódoló variánsok fehérjeszerkezetre gyakorolt hatását vizsgáló algoritmusok szerint a c.370-26A>G variáns káros hatású lehet (IntSplice2: „pathogenic”; RegSNPs-intron: „damaging”). Mindkét érintett gyermek compound heterozigóta genotípussal bírt erre a két eltérésre nézve. Nemzetközi study keretei között, Hollandiában elvégzett trio WGS analízis is megerősítette ezt a találatot.

Ezek az eredmények is jelzik, hogy indokolt esetben a WGS vizsgálatnak részét kell képeznie a genetikai diagnosztika eszköztárának.

P-02

A magyar spinocerebellaris ataxiás betegek komplex genetikai architektúrájának elemzése

Buzai-Kiss Lilla^{1,2}, Trombitás Barbara¹, Udvari Szabolcs¹, Sági Judit¹,
Molnár Mária Judit¹

¹ *Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete Semmelweis Egyetem, Budapest*

² *Multi-omikai Neurodegeneráció Kutatócsoport Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Budapest*

Bevezetés: A Spinocerebelláris ataxia (SCA) egy örökletes, neurodegeneratív betegség csoport, melyet a kifejezett cerebellaris tünetek jellemeznek. Eddig legalább 40 típusát írták le. A betegség kezdete leginkább felnőtt korra jellemző. Az SCA globális prevalenciája 1-5/100000. A európai populációban leggyakrabban előforduló típusokba az SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 tartozik. Az SCA3 (Machado-Joshep) és SCA7 gyakrabban található meg a portugál származásúak között. Az SCA2-ben szenvedők között több a nő, míg SCA3-ban és SCA6-ban szenvedők között több a férfi. Napjainkban egyre több kutatás zajlik ebben a kórképben betegség modifikáló terápia fejlesztés területén.

Célkitűzés: Munkánk során célunk volt az SCA-ban szenvedő betegek azonosítása, a genotípus-fenotípus meghatározása és a magyar SCA esetek demográfiai adatainak feltérképezése.

Betegek és módszerek: Az SCA-k hátterében álló CAG ismétlődés expanzió meghatározása fragmens analízissel történt. Munkánk során 114 spinocerebelláris ataxiával diagnosztizált eset területi eloszlását vizsgáltuk Magyarországon. Az elemzés során figyelembe vettük az egyes altípusok közötti eloszlást, az életkort és a nemek arányát. Eredményeinket összevetettük az irodalomból ismert adatokkal.

Eredmények: Az általunk vizsgált kohortban a betegek 61%-a SCA1-gyel, 26%-a SCA2-vel, 8%-a SCA3-mal, 3%-a SCA6-tal és 2%-a SCA7-tel diagnosztizált. Az esetek döntő százaléka Pest vármegyében található. A betegek átlag életkora SCA1-es típusban 57 év, SCA2-ben 54 év, SCA 3-ban 52 év, SCA6-ban 75 év, SCA7-ben 69 év. A nemek közötti eloszlása pedig közel azonos, azonban SCA6 esetén magasabb a férfiak aránya. Az ataxiához trászuló leggyakoribb tünetek SCA1-es típusban egyensúlyzavar, járásbizonytalanság, felső végtagok ügyetlensége, SCA2-ben és SCA6-ban emellett a beszéd- és nyelészavar, SCA3-ban kognitív hanyatlás, SCA7-ben pedig a látásromlás is megfigyelhető.

Konklúzió: A magyar SCA kohortban a leggyakoribb altípusnak az SCA1 tekinthető, míg a nemek százalékos aránya megegyezik a nemzetközi irodalomban leírt adatokkal.

P-03

A MECP2 asszociált mitochondriális diszfunkció többszintű bizonyítékai saját esetünk kapcsán

Balicza Péter^{1,2}, Csányiné Sági Judit¹, Gézsi András³, Fedor Mariann¹, Varga Noémi Ágnes¹, Gál Anikó¹, Molnár Mária Judit^{1,2}

¹ Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest, Magyarország.

² Eötvös Loránd Kutatási Hálózat- Semmelweis Egyetem, Multi-Omikai Neurodegeneráció Kutatócsoport

³ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Méréstechnika és Információs Rendszerek Tanszék, Budapest, Magyarország.

Prezentációnkban egy patogén *MECP2* variánst hordozó férfi beteget mutatunk be, aki túlnyomórészt negatív pszichiátriai tünetekkel és a mitochondriális diszfunkció többszintű bizonyítékával jellemezhető és aki pozitívan reagált a cariprazine kezelésre.

Anamnézisében megkésett beszédfejlődés szerepelt. Gyermekkora óta súlyos szociális szorongás, tanulási zavarok, kognitív meglassulás és domináns negatív pszichiátriai tünetek (alogia, apátia, amotiváció és avolúció) jellemezték. Biokémiai és myopathológiai vizsgálatai mitochondriális funkciózavart jeleztek (kóros laktát terheléses vizsgálat, az izomrostokban enyhe mitochondrialis diszfunkció jelei). A teljes exom szekvenálás egy patogén *MECP2* variánst (p.Arg179Trp) azonosított. A feltáró transzkriptom-elemzés az anyagcsere-, és oxidatív foszforilációs útvonalak érintettségét mutatta ki.

A mitochondriális diszfunkciót már korábban is feltételezték a klasszikus Rett-szindrómában, jelen esetünk azonban az első human bizonyíték, hogy a *MECP2* génhez kapcsolódó mitochondriális diszfunkció szerepet játszik a Rett-szindróma kialakulásában. Eredményeink tovább erősítik a *MECP2* gén fontosságát a mitochondriális útvonalakban, ami megnyitja a kaput a személyre szabottabb terápiás beavatkozások előtt.

A jó cariprazine-válasz kiemeli az egyes klinikai tünetekhez kapcsolódó patomechanizmusok megértésének döntő szerepét az optimális kezelési stratégiák kiválasztásában annak érdekében, hogy a klasszikus diagnosztikus kategóriák helyett transzdiagnosztikus szempontok érvényesülhessenek a jövőben a betegségek megközelítése során.

P-04

Az SMN2 gén betegségmódosító variánsainak vizsgálata a magyar SMA betegekben

Géresi Adrienn^{1,2}, Udvari Szabolcs¹, Ripszám Emese¹, Molnár Mária Judit^{1,2}

¹Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

²Multimikiai Neurodegeneráció Kutatócsoport ELKH

Bevezetés: A spinális izomatropiát (SMA) az SMN1 gén biallélikus deléciója vagy patogén variánsa miatt kialakuló SMN fehérje hiánya okozza. Az SMN fehérjét az SMN1 gén mellett annak paralógja, az SMN2 gén is tudja csekély mértékben termelni. Az SMN2 kópiaszáma ezáltal elsődleges prognosztikai tényező a betegség kimenetele szempontjából, bár a genotípus-fenotípus korreláció nem abszolút. Az SMN2 kópiaszáma mellett egyéb intragénikus variánsai is módosíthatják a betegség klinikai megjelenését. Eddig 2 pozitív módosító variánst sikerült azonosítani, a c.859G>C és a c.835-44A>G variánsokat. Mindkettő javítja az SMN2 mRNS splicingját, így ezek jelenléte a funkcionáló SMN fehérje mennyiségét kb. 20%-kal növelheti. Az ezen variánsokat legalább egy kópiában hordozó betegeknel a vártnál enyhébb fenotípust írtak le. Előfordulási gyakoriságukra vonatkozóan kevés irodalmi adat áll rendelkezésre, a jelen információk alapján az 1% alatti.

Cél: A magyar SMA betegekben a két SMN2 módosító ritka variáns előfordulási gyakoriságának elemzése.

Betegek és módszerek: Intézetünkben 2015 óta összesen 168 esetben született meg MLPA vizsgálattal az SMA genetikai diagnózisa. Ezekben a betegekben kerestük a fenti 2 variáns jelenlétét. A variánsok azonosítása, illetve azok kópiaszámának mennyiségi meghatározása a variánsokra tervezett allélspecifikus real-time PCR metodikával történt.

Eredmények: A c.859G>C variánst 2 beteg esetben mutattuk ki a 168 betegből. A c.835-44A>G variánst egy betegben sem találtuk meg. A heterozigóta c.859G>C variáns egy 3 SMN2 kópiával rendelkező SMA 3-as típusú 3 éves járóképes kisfiú mintájában volt jelen. Nusinersen kezelése a tünetek megjelenését követően indult. A második páciens a 2023 áprilisában újszülöttként kiszűrt, 3 SMN2 kópiával rendelkező kislány, aki 2 kópiában hordozza a variánst. Ő tünetmentesen részesült terápiában.

Konklúzió: Az eddigi eredmények szerint a fenti variánsok előfordulási gyakorisága a magyar SMA betegpopulációban is alacsony. A variánsok pozitív betegségmódosító hatását elemezni a rövid követési idő miatt még nem lehetett. A betegek hosszmetzeti követése javasolt. Az SMA egyre komplexebbnek bizonyuló genetikai háttere és a bővülő terápiás lehetőségek miatt további prediktív genetikai variánsok vizsgálata javasolt az individuális terápia választás érdekében.

P-05

SPG7 genetikai háttere és klinikai spektruma magyar kohort alapján

Jimoh Idris János^{1,2}, Csabán Dóra¹, Balicza Péter¹, Szlepák Tamás¹, Trombitás Barbara¹, Monár Mária Judit¹

¹ SE Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

² Interdiszciplináris Orvos Tudományok Doktori Iskola, Szeged

Az SPG7 gén pathogén variánsait elsősorban öröklődő spasztikus paraparesissel asszociálták. Azonban a gén által kódolt fehérje mitochondriális funkcióban betöltött szerepe és szöveti expressziója miatt számos egyéb klinikai tünet megjelenése sem elhanyagolható. Klinikai vizsgálataink során 427 beteget vizsgáltunk SPG7 variáns azonosítása céljából. Beválasztási kritériumaink során spasztikus, ataxiás tüneteket mutató betegek mellett izombiopsziával vagy az aerob anyagcsere zavarára utaló terheléses laktát vizsgálattal vagy multiszisztémás eltéréseket, vagy ophtalmoplegiát mutató mitochondriális dysfunkcióval rendelkező betegeket valamint amyotrophia nélküli motoneuron leasioval rendelkező betegeket is megvizsgáltunk. Célunk volt eme kevésbé vizsgált csoportok vizsgálata által felmérni az SPG7 ritka variánsaira visszavezethető klinikai spektrumot, valamint az adott betegcsoportokban a gén fehérje funkciót károsító ritka variánsainak gyakoriságát.

Vizsgálataink során ACMG kritériumai alapján 10 pathogén, vagy valószínűleg pathogén és 5 bizonytalan klinikai jelentőségű, de fehérjefunkcióra potenciálisan káros eltérést azonosítottunk, valamint 1 benignus variánst melynek motoneuron károsodás szempontjából rizikó faktor szerepe irodalmi adatok alapján valószínűsíthető. A vizsgált betegek közül 25 betegnél került azonosításra biallélikus eltérés, mely mellett számos esetben került azonosításra monoallélikus eltérés. A betegek közötti leggyakoribb eltérés az L78X volt melyet az A510V variáns követett, továbbá az R486Q rizikó faktorként számon tartott variáns is számos betegben volt jelen. Monoallélikus formában mind missense frameshift és splice variánsok kerültek igazolásra tünetes betegekben. Betegeink mélyfenotipizálása során scoreolás mellett, MRI, elektrophysiológiai, szövettani vizsgálatokat végeztünk.

Igazoltuk a magyar kohortban hogy klasszikus spaszticitás és ataxia mellett amyotrophia nélküli ALS irányba vizsgált betegek körében is számos esetben jelen van bi- vagy monoallélikus ritka SPG7 variáns. Mint mitochondriális proteineknel számos esetben, az SPG7 esetében is a számos monoallélikus eltérést hordozó beteg felveti a semidomináns és mutáció függő öröklésment potenciális lehetőségét. Vizsgálataink során mélyfenotipizált betegeink eredményeit, variánsaik és fenotypus-genotypus korrelációk részletes bemutatását tervezzük előadásunk során.

P-06

A C9orf72 hexanucleotid repeat expansióval rendelkező magyar betegek epidemiológiai és genotípus-fenotípus elemzése

Nagy Zsófia Flóra^{1,2,3}, Trombitás Barbara^{1,2}, Pál Margit^{3,4}, Csabán Dóra¹, Géresi Adrienn^{1,2}, Salamon András⁵, Gál Anikó^{1,2}, Grosz Zoltán^{1,2}, Engelhardt József⁵, Klivényi Péter⁵, Széll Márta^{3,4}, Molnár Mária Judit¹

¹ Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Semmelweis Egyetem

² Multiomikai Neurodegeneráció Kutatócsoport Eötvös Lóránd Kutatóhálózat

³ Orvosi Genetikai Intézet, Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar

⁴ ELKH-SZTE Funkcionális Klinikai Genetika Kutatócsoport

⁵ Neurológiai Klinika, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar

Bevezetés:

A C9orf72 gén intronikus G₄C₂ hexanukleotid repeat expansiója a leggyakrabban azonosított genetikai eltérés mind a családi halmozódású frontotemporális demencia (FTD) és amyotrophiás lateralsclerosis (ALS) hátterében is. Nemrég a mutációt más neurodegeneratív kórképekkel társulva is leírták, mint például egyéb demencia típusok, Huntington fenokópia, Parkinson-kór, egyéb mozgászavarok. Egyre többet olvashatunk a C9orf72 érintettségéről pszichiátriai betegségekből is.

Betegek és módszerek:

Vizsgálatunkba összesen 1030 neurodegeneratív betegségben szenvedő egyén került bevonásra 2018 és 2023 között. A C9orf72 gén hexanukleotid repeat expansióját repeat primed PCR technikával vizsgáltuk.

Kórosnak a 30 fölötti repeat expansiót minősítettük.

Eredmények:

Patológiás tartományba eső repeat expansiót azonosítottunk 77 beteg esetében (életkor 52.6 év, 42 nőbeteg, 37 férfibeteg). Ezen betegek között 34 esetben felelt meg a fenotípus tiszta ALS-nak (átlagéletkor diagnóziskor: 57.5 év), 8 betegnél ALS-FTD spektrumbetegség igazolódott. További 18 beteg esetében diagnosztizáltak Parkinson-kórt (amelyhez 3 esetben demencia is társult) életkor, 2 beteg esetében igazolódott Parkinson-ALS overlap szindróma. Három beteg esetében detektáltuk a hexanukleotid repeat expansiót a Huntington fenokópia hátterében (életkorok a tünetek kezdetekor: 3 év, 23 év és 50 év).

A C9orf72 pozitív betegek átlagéletkora tünetek kezdetekor szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a betegség sporadikus formájában. Az ALS alcsoportban gyakrabban tapasztaltunk bulbáris tüneteket (45%) a betegség diagnosztizálásakor a szakirodalomban leírtakhoz képest. A mutációt hordozó betegek körében gyorsabb betegségelefolyást figyeltünk meg (medián túlélés a tünetkezdettől: 30 hónap), valamint halmozottan fordultak elő pszichiátriai tünetek, úgymint súlyos szorongás, tévképzetek és hallucináció.

Következtetés:

Egyes neurodegeneratív betegségek diagnosztikája során kiemelkedően fontos a C9orf72 gén vizsgálata, mivel egy relatíve gyakori genetikai rendellenességről van szó, ami autoszomális domináns módon öröklődik, nagyon változatos klinikai megjelenést mutat és a jelenleg zajló klinikai vizsgálatok alapján a mutáció specifikus terápia is sem várat sokat magára. A genotípus-fenotípus korreláció karakterizációja katalizálhatja a személyre szabott terápiák fejlesztését.

P-07

Genetikai vizsgálatok fokális dystoniával diagnosztizált magyar betegek körében

Nagy Zsófia Flóra^{1,4,#}, Salamon András^{2,#}, Pál Margit^{1,3}, Szabó Máté², Csósz Ádám², Szpisjak László², Gárdián Gabriella², Zádori Dénes², Molnár Mária Judit⁴, Széll Márta^{1,3,*}, Klivényi Péter^{2,*}

¹ Orvosi Genetikai Intézet, Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar

² Neurológiai Klinika, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar

³ ELKH-SZTE Funkcionális Klinikai Genetika Kutatócsoport

⁴ Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Semmelweis Egyetem

Megosztott első szerzők

* Megosztott utolsó szerzők

Bevezetés:

A dystonia egy olyan mozgászavar, amelyet tartós vagy intermittáló izomkontrakciók jellemeznek, amelyek abnormális, gyakran ismétlődő mozgásokat, tartásokat, vagy mindkettőt eredményeznek. A két leggyakoribb felnőttkori fokális dystonia forma a cervicalis dystonia (CD) valamint a jóindulatú esszenciális blepharospasmus (BSP). A CD és BSP genetikai háttere meglehetősen heterogén. A genetikai diagnózis felállítását nehezíti a betegség csökkent penetranciája is.

Betegek és módszerek:

Jelen vizsgálatunkba 121 fokális dystoniával (74 CD és 47 BSP) diagnosztizált beteg került bevonásra. A betegek átlagéletkora a tünetek jelentkezésekor 64 év volt. 114 beteg vizsgálathoz egyedi tervezésű, 29 gént tartalmazó újgenerációs szekvenálási génpanelt alkalmaztunk, illetve 14 beteg esetében teljes exom szekvenálás történt. 7 beteg esetében mindkét genetikai vizsgálatot elvégeztük. A vizsgált gének kópiaszám eltéréseit bioinformatikai módszerekkel elemeztük.

Eredmények:

Az újgenerációs szekvenálási technikák segítségével 24 génben 209 különböző variánst detektáltunk heterozigóta formában. Az ACMG klasszifikációja alapján 2 variáns patogén (*ATM* és *ATP7B* gén), 4 további variáns vélhetően patogén (*COL6A3* és *GNAL* gén) besorolású. Vizsgálatunk során 53 ismeretlen jelentőségű variánst azonosítottunk, melyek közül 5 tartható kórokinak (*KMT2B*, *ANO3*, *KCNN2* és *VPS16* gén). Vizsgálatunk során 9 beteg esetében azonosítottunk a betegséggel kapcsolatba hozható variánst (9/121, 7.4%), ami mintegy kétszerese a szakirodalomban eddig leírt találati rátának (4%).

Következtetés:

Eredményeinkkel hozzájárulunk a blepharospasmus és a cervicalis dystonia genetikai hátterének megismeréséhez. Reményeink szerint már a közeli jövőben kifejlesztésre kerülnek olyan terápiás lehetőségek, melyek személyre szabott alkalmazásának elengedhetetlen része lesz a genetikai vizsgálat. Tudomásunk szerint jelen vizsgálatunk az első átfogó genetikai vizsgálat fokális dystoniával gondozott betegek körében a közép-európai régióban.

P-08

SMA betegek risdiplam kezelése során nyert tapasztalatok

Bevezetés:

A spinalis izomatropia (SMA) innovatív terápiáinak legújabb képviselője a risdiplam, mely az SMN2 gén pre-mRNS splicing módosító hatása révén az SMN2-ről transzlálódó SMN-fehérje koncentrációjának emelkedéséhez vezet. A risdiplam kis molekula, így átjut a vér-agy gáton és így a központi idegrendszerben is jól hasznosul. Európai engedélyezése 2021-ben történt meg, ezzel tovább bővült az SMA betegek terápiás palettája újabb lehetőségeket nyújtva a személyre szabott kezelésekhez.

Cél: A risdiplam kezelésben részesülő betegek real-world adatainak elemzése a kezelés hatásosságának megismerése céljából

Betegek és Módszerek:

Intézetünkben 60 SMA-beteget gondozunk, közülük 18 főt kezeltünk risdiplammal korai hozzáférési program keretében. Nusinersen terápiában részesül 35 beteg, 8 páciens risdiplam kezelésre vár. A bemutatott kohortban 9 férfit és 9 nőt követtünk nyomon, átlagéletkoruk 33 év (min 16, max 53). Az SMA típusok megoszlása: 3 fő SMA I-es típusába, 14 fő SMA II, 1 fő SMA III. Az SMN2 kópiák száma: 3 betegnek van 2, 15 betegnek 3 SMN2 kópiája van. Minden beteg járásképtelen, súlyos gerincdeformitással rendelkezik, 5 közülük gerincstabilizáló műtéten esett át. Nem invazív légzéstámogatást kap öt, invazív lélegeztetést igényel két beteg. A motoros funkciókat 15 esetben tudtuk RULM skálával követni, az életminőségi skálákat minden esetben követtük. Minden RULM felmérést videóval rögzítettünk.

Eredmények:

A RULM-pontszámok 0 és 32 pont között mozogtak, és 2 eset kivételével növekedtek vagy stabilak maradtak. A hosszmetzeti követés alatt átmeneti emelkedéseket és csökkenéseket is lehetett megfigyelni, a csökkenések hátterében legtöbb esetben azonosítani lehetett a magyarázó tényezőket (kerekeszék csere, társbetegség vagy baleset a felmérés előtt rövid idővel). A RULM nem minden esetben bizonyult alkalmasnak a javulás valós követéséhez, mert nem elég szenzitív. Hat beteg számolt be enyhe hasmenésről, amelyet többen életminőségükre pozitívan ható effektusként írtak le.

Következtetés:

A Risdiplam jól tolerálható és biztonságos. Hatásra kismértékű javulást, állapot stabilizációt figyeltünk meg. Az előrehaladott stádiumú felnőtt pácienseknél a stagnáló motoros funkció is terápiás siker. Valódi evidenciákon alapuló további következtetések levonásához, a klinikailag releváns változások észleléséhez a hosszútávú követés szükséges olyan eszközökkel, melyek alkalmasak a kismértékű motoros funkció azonosítására is.

P-09

A NOTCH3 variánsok genetikai epidemiológiai elemzése Magyarországon

Szabó Fruzsina¹, Grósz Zoltán¹, Balicza Péter¹, Gunda Bence², Sas Katalin³, Várhegyi Vera¹, Gál Anikó¹, Molnár Mária Judit¹

¹ Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország

² Neurológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország

³ Neurológiai Klinika, Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Orvostudományi Kar, Szeged, Magyarország

Háttér: Az agyi autoszomális domináns arteriopátia szubkortikális infarktusokkal és leukoencefalopátiával (CADASIL) egy örökletes, kísérbetegség, amely stroke-ot okoz. A kórkép gyakran jár migrénnel, progresszív kognitív hanyatlással és pszichiátriai zavarokkal. A CADASIL előfordulási gyakoriságát világszerte körülbelül 2-4:100 000-re becsülik. Munkánk során a NOTCH3 gén kódoló régiójából származó patogén variánsok gyakoriságát, valamint az egyes patogén variánsok klinikai fenotípusra gyakorolt hatását vizsgáltuk.

Betegek és módszerek: A NOTCH3 gén teljes kódoló régióját 650 kísérbetegségben szenvedő betegnél (359 férfi, 291 nő; átlagéletkor 45.27 ± 15.95 év) Sanger- vagy NGS-szekvenálással elemeztük. A vizsgált egyéneknél a koponya MRI többszörös agyi infarktusokat és fehérállományi elváltozásokat mutatott, és az agyi érrendszeri rendellenességek rizikófaktorai nem voltak jelen.

Eredmények: Vizsgálatunkban a NOTCH3 20 patogén variánsa 52 esetben igazolódott. Ezek közül 4 új (p. C222S, G420C, R133C, R207C), valószínűleg patogén eltérés azonosítottunk. A leggyakrabban, az esetek 68%-ban az R90C variáns fordult elő, amelyet 21%-os előfordulással az R153C szubsztitúció követett. A CADASIL tüneteit 4 csoportra osztottuk, amely során a TIA/stroke 69%-ban, a migrén 52%-ban (az esetek mintegy negyedében aurával), apszichiátriai zavarokkal 29%-ban és kognitív hanyatlás 25%-ban volt jelen. A betegek 86%-ban koponya MRI-en leukoencephalopathiát mutattak ki. Számos esetben a koponya MRI-n látott fehérállományi elváltozások megelőzik a CADASIL klasszikus tüneteinek kialakulását.

Következtetés: A magyar kohorszban a leggyakoribb változás az R90C volt 2,5%-os mutációs gyakorisággal. Ezek az eredmények kiszélesítik a CADASIL szindróma genetikai hátterét és klinikai spektrumát a magyar populációban. Vizsgálataink alapján széleskörűbben javasoljuk a NOTCH3 gén genetikai analízisét a stroke / TIA, migrén és leukoencephalopathiás betegek esetében is.

P-10

Diagnosztikai kihívások a Kleefstra-szindróma 1-es típusa kapcsán egy magyar beteg esetén

Szabó András, Czakó Márta, Till Ágnes, Zsigmond Anna, Bene Judit, Hadzsiev Kinga
Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

A Kleefstra-szindróma 1-es típusa egy ritka, szindrómás értelmi akadályozottsággal járó kórkép, melynek hátterében a 9q34.3 szubtelomerikus régióba eső Euchromatic Histone Lysine Methyltransferase 1 (*EHMT1*) gén deléciója, illetve funkcióvesztést okozó intragenikus mutációi állnak. A Kleefstra-szindróma 1-es típusát leginkább közepsúlyos vagy súlyos fejlődésbeli késés, értelmi akadályozottság, autisztikus tünetek, hypotonia, brachy-microcephalia, valamint dysmorphiás tünetek jellemzik, azonban a komplex fenotípusos kép kialakításában egyéb tünetek is részt vehetnek, mint például epilepszia, veleszületett szívfejlődési rendellenesség vagy urogenitális rendellenesség. A betegség prevalenciája jelenleg még ismeretlen, azonban teljes genom adatokon alapuló becslések szerint megközelítőleg 1:500 az előfordulási gyakorisága idegrendszeri fejlődési rendellenességet mutató személyekben, és napjainkban már több mint 100 eset ismert világszerte.

Vizsgálataink során array komparatív genomiális hibridizációt alkalmaztunk egy megkésett pszichomotoros fejlődést, értelmi akadályozottságot, komplex szívfejlődési rendellenességet, microcephaliát és minor anomáliákat mutató lánygyermek esetén Agilent SurePrint G3 Human CGH Microarray 8x60K oligo-array, valamint Applied Biosystems™ CytoScan™ XON Assay platformok felhasználásával.

A beteg Agilent array komparatív genomiális hibridizációs vizsgálata során egy 33,7 kb méretű kópiaszám csökkenést detektáltunk a 9q34.3 genomi régióban, amely a *ZMYND19*, *ARRDC1* és *ARRDC1-AS1* géneket érintette. Az érintett genomi régiót, a Kleefstra-szindróma 1-es típusával átfedő tüneteket, valamint az alkalmazott platform próbáinak elhelyezkedését figyelembe véve elvégeztük mintánk ismételt vizsgálatát a nagyobb felbontású Applied Biosystems™ CytoScan™ XON Assay platform segítségével az esetleges *EHMT1* érintettség vizsgálata érdekében. Az XON Assay-el végzett vizsgálat a 9q34.3 kromoszómális régió 44 kb méretű kópiaszám csökkenését detektálta, amely a fent leírt gének, valamint a *DPH7* gén érintettségén kívül az *EHMT1* gén első exonjának érintettségét is kimutatta, igazolva a Kleefstra-szindróma 1-es típusának diagnózisát.

A genetikai és genomikai betegségek gyakran összetett, átfedő, nem specifikus tünettana, a csökkent penetrancia, a változó expresszivitás, valamint az alkalmazott diagnosztikai módszer kiválasztása sok esetben óriási kihívás a megfelelő diagnózis felállítása szempontjából. Esetünk sikeres diagnózisa felhívja a figyelmet a megfelelő diagnosztikai módszer kiválasztásának fontosságára és a részletes klinikai vizsgálat elvégzésére a minél gyorsabb és költséghatékonyabb diagnózis felállítása érdekében.

P-11

A Friedreich-ataxia frekvenciájának meghatározása genetikai diagnózis nélküli ataxiás betegcsoportban

Trombitás Barbara, Buzai-Kiss Lilla, Csányiné Sági Judit, Molnár Viktor,
Grosz Zoltán, Molnár Mária Judit
Genomika Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Semmelweis Egyetem

Bevezetés: A Friedreich-ataxia a leggyakoribb, autoszómális recesszív öröklődésű ataxia. A spasticus ataxia mellett jellegzetes társuló tünetek a korai scoliosis, pex excavatus, cardiomyopathia és diabetes mellitus. A gyors progresszió miatt a betegek általában 10 éven belül elvesztik járóképességüket. Az esetek 96%-ában a frataxin (*FXN*) gén első intronjának biallélikus GAA trinukleotid repeat expanziója okozza a betegséget. Annak ellenére, hogy a klinikai tünetek jellegzetesek, mégsem kerülnek minden esetben azonosításra ezek a betegek. Eddig oki kezelés nem állt rendelkezésre, azonban 2023-ban az FDA törzskönyvezte az omaveloxolont a Friedreich ataxia kezelésére, így a genetikai diagnózis még fontosabbá vált.

Célkitűzés: Az *FXN* gén biallélikus trinukleotid repeat expanzió előfordulási frekvenciájának és a genotípus-fenotípus korrelációjának meghatározása Intézetünk ataxiás betegeinek kohortjában.

Betegek és módszerek: 150 ataxiás beteg mintáját vizsgáltuk meg triplet prime PCR módszerrel és flanking PCR módszerrel.

Eredmény: A 150 vizsgált betegből 9 esetben találtunk homozigóta GAA expanziót a *FXN* gén 1. intronjában. A talált betegek átlag életkora 15 év, a legfiatalabb tünetei 3 évesen, a legidősebbé 37 évesen kezdődtek. Valamennyi eset a klasszikus fenotípust mutatta, az ataxia mellett scoliosis 55 %-ban, cardiomyopathia 2 esetben, látászavar 4 esetben fordult elő.

Következtetés: A trinukleotid repeat betegségekben különösen fontos a diagnózis nélküli betegek genetikai diagnózisának revideálása, mivel a manapság nagyon elterjedt NGS alapú módszerek nem alkalmasak a repeat expanziók azonosítására. Az új terápiás lehetőség megjelenése különösen fontossá teszi, hogy minden Friedreich ataxiás beteget megtaláljunk és az esetleges terápiás lehetőséget számára felajánljuk.

P-12

SHANK2 funkcióvesztő variáns egy autizmus-spektrum zavarral élő gyermekben – a tizenhatodik eset

Szabó Tímea Margit¹, Bessenyei Beáta², Szűcs Zsuzsanna², Madar László², Balogh István², Szakszon Katalin¹

¹ Debreceni Egyetem ÁOK, Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Intézet

² Debreceni Egyetem ÁOK, Klinikai Központ, Laboratóriumi Medicina Intézet

A SHANK2 gén a glutamáterg neuronok postsynapticus membránjának egy strukturális fehérjéjét kódolja. Funkcióvesztéssel járó mutációit autizmus spektrum zavarral hozzák összefüggésbe; egy 2019-es tanulmány a neuronok hyperkonnectivitását találta pluripotens őssejtekből generált kortikális neuron sejt kultúrában (Zaslavsky K et al., *Nat Neurosci.* 2019.). Eddig mindössze 15 esetet írtak le a szakirodalomban, mikrodéliációkat is beleértve, akik közül a legtöbb egyén nagy autizmus-spektrum kohorsz minták exome-szekvenálása révén került azonosításra, így a klinikai ismereteink szegényesek erről az ultraritka állapotról. Legjellemzőbb tünetek az enyhe- közép súlyos értelmi elmaradás, a nyelvi készségek jelentős elmaradása és következményes beszédkéésés, valamint autizmus spektrum zavar. ((Caumes et al., *Eur J Med Genet.* 2020.).

A szerzők egy 8 éves gyermek esetét mutatják be. A gyermeket megkésett mozgás- és beszédfejlődés, de a beszédmondásnál jobb beszédértés, autizmus spektrum zavar, megkésett, de stabil ütemű kognitív fejlődés miatt vizsgáltuk. Mindemellet memóriája kivételesen jónak bizonyult; 8 évesen képes volt zongorán szinkotta alapján egyszerű dallamokat lejátszani, intenzív beszédterápia hatására a beszélt szóincse 100 szavasra bővült, rövid szó szerkezetet alkotott. Morfológiai jellemzői a Fragilis X-szindrómával mutattak klinikai átfedést, de a viselkedési fenotípus eltért attól.

A SHANK2-höz köthető idegrendszeri fejlődési zavar egyike a legkritábbaknak. Genetikailag és klinikailag is heterogén állapot, melynek azonosítása klinikailag megítélésünk szerint lehetetlen – minden eddig leírt egyén és az általunk azonosított gyermek is az ún. „genotype-first” megközelítés révén kapott diagnózist. Nemzetközi ajánlások hangsúlyozzák ennek előnyben részesítését a nemszindrómásnak látszó autizmus/intellektuális elmaradásokban, amit az általunk ismertett eset is megerősít.

Az első *ROS1*-transzlokált non-Langerhans sejtes histiocytosis eset detektálása komprehenzív genomikai profilozás segítségével

Bedics Gábor^{1,2}, Csóka Monika³, Reiniger Lilla¹, Varga Edit³, Liptai Zoltán³, Papp Gergő¹, Bekő Anna^{1,2}, Catherine Cervi³, Bödör Csaba^{1,2}, Scheich Bálint¹

¹ Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

² HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológiai Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

³ Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

Bevezetés

A központi idegrendszer érintő histiocyter neopláziák ritka entitásnak számítanak, szerteágazó klinikopatológiai jellemzőkkel és változó prognózissal társulnak. A célzott terápiás kezelések igen hatékonynak bizonyultak ezen kórkép terápiájában, leggyakrabban a MAPK jelátviteli útvonal gátlószereit alkalmazzák *BRAF* V600E mutáns esetekben, de a nemrég leírt *ALK*-transzlokált histiocytosis esetekben is hatékony és tartós terápiás válaszról számoltak be. Jelen esettanulmányban az első *ROS1*-transzlokációval diagnosztizált központi idegrendszer érintő non-Langerhans sejtes histiocytosis eset molekuláris genetikai és klinikopatológiai jellemzőit mutatjuk be.

Módszerek

A látás-, és egyensúlyzavarral érkező 1,5 éves beteg MR vizsgálata számos intrakraniális homogén, kontraszthalmozó léziót írt le. Negatív elektro-enkefalográfiás és liquor-áramlási citometriai és citológiai vizsgálatot követően egy cerebelláris lézió biopsziás mintavétele történt. A szövetszöveti elemzését követően komprehenzív genomikai profilozást végeztünk az Illumina TruSight Oncology 500 panel segítségével, melyet Illumina NextSeq2000 új-generációs szekvenálási platformon szekvenáltunk. A bioinformatikai analízis az Illumina TruSight Oncology 500 Local App v.2.1 alkalmazásával történt, a kapott variánsok klinikai interpretációját a QIAGEN Clinical Insight platform segítségével végeztük.

Eredmények

A kórszöveti vizsgálat során neoplasztikus histiocyták denz infiltrátumát detektáltuk a cerebelláris parenchymában valamint a leptomeningeális felszínen. A morfológiai és immunfenotípus alapján a kórszöveti diagnózis „non-Langerhans sejtes histiocytosis juvenilis xanthogranulomára jellemző szövetszöveti jegyekkel” lett. A komprehenzív genomikai profilozás az eddig a szakirodalomban nem ismert *ROS1::GIT2* génfúziót detektálta, melyet FISH vizsgálattal és Sanger-szekvenálással is validáltunk. A beteg *off-label* indikációban entrectinib terápiában részesült, mely a *ROS1* által kódolt tirozin-kinázt is gátolja, a terápia bevezetésétől számított második hónapban a beteg látásában szignifikáns javulás következett be.

Megbeszélés

A központi idegrendszer érintő histiocyter neopláziák ritka csoportjában komprehenzív genomikai profilozással detektált *ROS1::GIT2* génfúzió mindeddig ismeretlen volt a szakirodalomban, mint ahogy a *ROS1* transzlokáció szerepe is non-Langerhans sejtes histiocytosisban. A leírt génfúzió partnergénjei közül a *ROS1* szerepe jól ismert nem-kissejtes tüdő carcinomákban, ahol a *ROS1* transzlokáció eredménye a kódolt tirozin-kináz konsitutív aktivációjában nyilvánul meg; a *GIT2* transzlokációi *BRAF*, valamint *PDGFRA* partnergénekként korábban is ismertek voltak pylocytás astrocytomában, azaz a leírt új génfúzió elméletileg onkogén. A *ROS1* tirozin-kináz gátlása entrectinibbel hatékonynak bizonyult, mely további bizonyítékként szolgál a detektált fúzió onkogenitását illetően. A bemutatott eset jól demonstrálja a komprehenzív genomikai profilozás szerepét a rutin molekuláris patológiai diagnosztikában.

P-14

Multigén panel vizsgálatok alkalmazása endokrin daganatos betegekben

Butz Henriett¹⁻⁴, Nagy Petra¹, Antal Bálint², Papp János^{1,3}, Grolmusz Vince^{1,3},
Bozsik Anikó^{1,3}, Pócza Tímea¹, Patócs Attila^{1,2,3}

¹ Molekuláris Genetika Osztály és Nemzeti Tumorbíológia Laboratórium, Országos Onkológia Intézet, Budapest

² Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Laboratóriumi Medicina Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

³ Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Budapest

⁴ Onkológiai Biobank Központ, Országos Onkológia Intézet, Budapest

Bevezetés. A különböző daganatok között az endokrin rendszer tumorainál legmagasabb a genetikai predispozíció. Bizonyos manifesztációk rendkívül specifikusak egy-egy adott monogén szindrómára (pl. Carney-komplex, multiplex endokrin neoplázia 2), azonban számos daganat esetében felmerül differenciál diagnosztika az átfedő fenotípusok következtében. Más daganatok, pl. a pheochromocytoma/paraganglioma (PPGL) háttérében több gén is állhat, mindezért, valamint a költség-hatékonyságot is figyelembe véve a molekuláris genetikai vizsgálati stratégiában a multigén megközelítés javasolt.

Betegek és Módszerek. Az örökletes daganatos betegek molekuláris genetikai vizsgálatának nemzeti referenciaközpontjaként prospektív módon teszteltük a TruSight Hereditary Cancer Panel diagnosztikai hasznosságát Illumina MiSeq/NextSeq550DX platformon. 2021 októbertől és 2022 decembere között 97 endokrin rendszeri daganatos beteg molekuláris genetikai vizsgálatát végeztük el tájékozott beleegyezést követően (ETT-TUKEB 53720-4/2019/EÜIG).

Az összes ismeretlen jelentőségű patogén/valószínűsíthető patogén (P/LP) variánst egy második DNS-mintából validáltuk Sanger szekvenálással vagy multiplex ligáció-függő próba amplifikációval.

Eredmények. 96 beteg közül 23 esetben azonosítottunk P/LP variánsokat (23/96; 24%) a fenotípushoz asszociált génekben. Szindrómától függően a neurofibromatózis 1 (60%), leiomyomatózis-veserák (50%) és von Hippel Lindau szindrómában (50%), daganattípustól függően pedig a PPGL daganatokban (34%) detektáltuk a legmagasabb P/LP találati arányokat. A mellékvesekéreg karcinómás betegek között meglepően magas, 25%-ban tudtunk kimutatni betegségkötő eltérést, melyet több esetben a Lynch szindrómát okozó génekben azonosítottunk.

Kilenc esetben incidentális genetikai eltérést detektáltunk az *APC*, *ATM* és *CHEK2* génekben (9/96; 9%).

A panelünk 99,8% érzékenységet ért el a fenotípussal összefüggő target gén régiók megfelelő (>10read/bp) lefedettségének analízisével.

Konklúzió. Adataink azt mutatják, hogy egy átfogó multigénpanel rutin diagnosztikai eszközként történő használata az endokrin daganatos betegek tesztelésére rövid idő alatt magas diagnosztikai előnyökkel jár. Az incidentálisan azonosított variánsok potenciális terápiás célpontként szolgálhatnak (például *ATM* vagy *MSH6*) olyan daganatokban, ahol a terápiás lehetőségek korlátozottak (pl. immunterápia mellékvesekéregregrák), valamint kiegészítő szűrővizsgálatokkal segítik a betegek életkilátásait.

Támogatás: Belügyminisztérium Nemzeti innovációs onkogenomikai és prevenciók onkoterápiás programok elindítása, fejlesztése, NKFIH 2020-1.1.6-Jövő-2021-00008, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, ÚNKP-22-5-SE-1

A miRNS biomarkerek szerepe a Wilms-tumor és a diffúz hiperplasztikus perilobáris nefroblasztomatózis differenciáldiagnózisában

Csók Ádám¹, Micsik Tamás², Magyar Zsófia³, Tornóczki Tamás⁴, Kuthi Levente⁵, Nishi Yumika¹, Szirák Krisztina¹, Csóka Monika⁶, Ottóffy Gábor⁷, Soltész Beáta¹, Balogh István^{1,8}, Buglyó Gergely¹

¹ *Debreceni Egyetem, Általános Orvosi Kar, Humán genetikai Tanszék, Debrecen*

² *Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest*

³ *Semmelweis Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Baross utcai részleg, Budapest*

⁴ *Patológiai Intézet, Pécsi Klinikai Központ, Pécs*

⁵ *Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Általános Orvostudományi Kar, Patológiai Intézet, Szeged*

⁶ *Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Központ, Budapest*

⁷ *Pécsi Tudományegyetem, Pécsi Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika, Pécs*

⁸ *Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen*

A Wilms-tumor (WT) egy többnyire sporadikus vesedaganat, amelyet 5 év alatti gyermekeknél diagnosztizálnak. A nefrogén maradványok (nephrogenic rest - NR) embrionális metanefrikus sejtekből álló rendellenességek. Szövettanuk és elhelyezkedésük alapján osztályozzák őket. Diffúz hiperplasztikus perilobáris nefroblasztomatózis (DHPLN) esetén a perilobáris NR-ek a vese nagymértékű megnagyobbodását eredményezik.

A WT és a DHPLN gyakran nem különböztethetők meg szövettani jellemzőik alapján. A molekuláris markerek segítséget nyújthatnának a differenciáldiagnózishoz, de jelenleg ilyen molekuláris marker nem áll rendelkezésre. Kutatásunk során a miRNS-eket, mint lehetséges biomarkereket vizsgáltuk, amely során arra törekedtünk, hogy felfedjük, hogy a leírt expressziós különbségek közül melyek játszanak szerepet a patogenezis kezdeti lépéseiben (prekancerózus stádiumban), és melyek a későbbi WT-ban.

Három magyarországi egyetem Patológiai Intézetével együttműködve DHPLN-ből és a szomszédos egészséges veseszövetből formalinnal fixált, paraffinba ágyazott (formalin-fixed, paraffin-embedded - FFPE) mintákat gyűjtöttünk, majd miRNS-t izoláltunk belőlük.

A cDNS-re való átírás után qRT-PCR-es vizsgálat következett egy olyan PCR array segítségével, amely 84 urogenitális daganatban szerepet játszó miRNS primert tartalmazott.

Számos miRNS esetében különbséget mutattunk ki az expressziós mintázatban a nefroblasztomatózis és a WT minták között. Ezek közé tartoznak a Let-7 család tagjai, a miR-135b-5p, valamint a miR-146a-5p. További kísérletekre van szükség megfigyeléseink megerősítéséhez és új, potenciális biomarkerek feltérképezéséhez.

P-16

Genetikai vizsgálatok liquid biopszia segítségével epeúti malignitásokban

Csoma Szilvia Lilla¹, Bedekovics Judit¹, Árokszállási Anita², András Csilla²,
Méhes Gábor¹, Mokánszki Attila¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Patológia Intézet

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Onkológiai Klinika

Bevezetés: Az epeúti daganatok ritka, rossz prognózisú betegségcsoport, melyekre jelenleg korlátozottak az onkológiai kezelés lehetőségei. A perifériás vérben szabadon keringő tumor eredetű DNS-ek (cfDNS-ek) lehetővé teszik a daganatos betegek molekuláris genetikai eltéréseinek tanulmányozását. A precíziós onkológia korszakában elengedhetetlen olyan technológiák alkalmazása, amely megkönnyíti a betegség hátterének minél előbbi feltárását.

Célkitűzés: Munkánk célkitűzése cfDNS mennyiségi meghatározása illetve molekuláris feldolgoása szomatikus mutációk azonosításának céljából, valamint a betegek FFPE mintáinak eredményeivel való összehasonlításának kivitelezése. Mindezek mellett célul tűztük ki a becsült tumortérfogat (ETV) és a liquid biopszia (LB) DNS hozam kapcsolatának vizsgálatát.

Eredmények: NGS analízis során 31/35 betegnél (88%) azonosítottunk SNV-t, öt esetben csak a LB minta volt informatív. A patogén mutációk, mint például az *FGFR2*, *IDH1*, *IDH2*, *KRAS* és *TP53*, azonosíthatók voltak mindkét mintatípusban. A szöveti és liquid biopsziás (LB) eredményeket összehasonlítva hasonló variáns tumor terhelést tapasztaltunk. Pozitív korrelációt találtunk a becsült tumortérfogat és a cfDNS-hozam között.

Következtetés: Prospektív tanulmányunk során klinikailag releváns pontmutációkat mutattunk ki epeúti tumorok mind szövettani, mind liquid biopsziás mintáiból. A szabad DNS diagnosztikai alkalmazása a tumorok térbeli heterogenitását tükrözi, ezáltal egy új, eredményes megközelítés lehet a precíziós onkológiai kezeléseknél.

P-17

Fenotípussal asszociált és incidentális genetikai eltérések örökletes emlő és petefészekrák szindrómában

Nagy Petra¹, Papp János^{1,3}, Grolmusz Vince^{1,3}, Bozsik Anikó^{1,3}, Pócza Tímea¹, Patócs Attila^{1,3,4}, Butz Henriett¹⁻⁴

¹ Molekuláris Genetika Osztály és Nemzeti Tumorbíológia Laboratórium, Országos Onkológia Intézet, Budapest

² Onkológiai Biobank Központ, Országos Onkológia Intézet, Budapest

³ Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Budapest

⁴ Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Laboratóriumi Medicina Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Az örökletes emlő- és petefészekrák (hereditary breast and ovarian cancer, HBOC) szindróma molekuláris genetikai kivizsgálása során több gén vizsgálata javasolt, melyhez a multigénes vizsgálatok alkalmazása költséghatékony megoldást jelent. Célkitűzésünk a magyar populációban a HBOC szindróma hátterében álló gének, valamint azok klinikopatológiai paraméterekkel való összefüggésének vizsgálata.

Intézetünkben 2021. szeptember-2022. szeptember között 561 HBOC daganatos beteget vizsgáltunk, akik genetikai tanácsadás keretei között tájékozott beleegyezésüket adták (ETT-TUKEB 53720-4/2019/EÜIG). Csírvonalas DNS-ük analízisét 113-génes Illumina TruSight Hereditary Cancer Panel alkalmazásával végeztük. Az HBOC daganatokkal összefüggésben az *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *NF1*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11* és *TP53* géneket elemeztük, az NCCN 2022-es ajánlása szerint. A variánsok és incidentális találatok klasszifikálását ACMG ajánlások alapján végeztük. Eredményeinket független mintából Sanger szekvenálással valamint multiplex ligációfüggő próba-amplifikáció módszerrel validáltuk.

Az 561 betegből összesen 510 teljesítette az Emberi Erőforrások Minisztériuma genetikai tanácsadásról szóló szakmai irányelvben a HBOC-nak megfelelő vizsgálati kritériumokat, közülük 102 esetben (20%) azonosítottunk betegségkötő variánsokat; leggyakrabban a *BRCA1* (6,3%; 32/510), *BRCA2* (4,7%; 24/510) és *CHEK2* (2%; 10/510) génekben. A bizonytalan jelentőségű variánsok aránya a HBOC génekben azonos volt a kritériumoknak megfelelt és nem-megfelelt betegek között (28%). 3 esetben azonosítottunk egyidejűleg két különböző HBOC génben betegségkötő variánst. Két esetben találtunk betegséggel összefüggésbe nem hozható génekben (*RET*, *TMEM127*) patogén mutációkat. A HBOC-vel összefüggésbe hozható géneket tartalmazó régiók 99,6%-a volt megbízhatóan detektálható (>10 read/bp), a legalacsonyabb átlagos lefedettség a gének között 80-szoros volt.

A magyar populációban *BRCA1* és *BRCA2* mutációt hordozó betegeken túl az esetek plusz 9%-ában azonosítható egyéb génekben betegségkötő eltérés. Ezek mellett a dupla mutációkat és az incidentálisan azonosított genetikai eltéréseket is figyelembe kell venni a genetikai tanácsadás során. Az alkalmazott multigénes panel a klinikumban szükséges érzékenységgel vizsgálja az ajánlásokban szereplő daganat predispozíciót jelentő géneket.

Támogatás: Belügyminisztérium Nemzeti innovációs onkogenomikai program, NKFIH 2020-1.1.6-Jövő-2021-00008, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, ÚNKP-22-5-SE-1

P-18

Potenciális új biomarkerek azonosítása gyermekkori akut limfoblasztos leukémiához kapcsolódó központi idegrendszeri érintettség felderítéséhez

Péterffy Borbála¹, Nádas Tamás², Müller Judit², Krizsán Szilvia^{1,2}, Péter György³, Csanádi Krisztina³, Kriván Gergely^{4,5}, Kovács Gábor², Matolcsy András¹, Erdélyi Dániel², Bödör Csaba¹, Egyed Bálint^{1,2,5*}, Alpár Donát^{1*}

¹HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék Semmelweis Egyetem, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Tűzoltó utcai részleg, Budapest;

³Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet, Onkohematológiai Osztály, Budapest;

⁴Dél-Pesti Centrumkórház Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Gyermekhematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály, Budapest; ⁵Magyar Gyermekonkológiai Hálózat

*A szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá a munkához.

Bevezetés/Célkitűzés: A terápiás stratégiák fejlődésének köszönhetően az akut limfoblasztos leukémia túlélése jelentősen javult az elmúlt évtizedekben, a túlélés esélye azonban jelentősen romlik központi idegrendszeri (KIR) érintettség esetén. A mindennapi gyakorlatban jelenleg használatban lévő, sejtalapú liquordiagnosztikai eljárások az agyhártyákhoz kitapadt blasztok kimutatására nem alkalmasak, így sok esetben rejtve maradhat a központi idegrendszeri manifesztáció. Vizsgálatunk célja olyan biomarker azonosítása volt a sejtmentes liquor frakcióban, amely indikátora lehet a központi idegrendszer érintettségnek.

Módszer: ALL-es gyermekek kezelés előtt (n=19), illetve a kezelés későbbi időpontjaiban vett liquormintáiból (n=48) mikroRNS-t (miR) izoláltunk, és digitális droplet PCR-rel (QX200 System, Bio-Rad) mértük a miR-181a kópiaszámot. Hierarchikus klaszterezéssel, többszörös regresszióval és ANOVA-val vizsgáltuk a normalizált mikroRNS kópiaszámok, valamint a diagnosztikus csontvelői mintákból azonosított mutációs adatok összefüggését a központi idegrendszeri érintettség mértékével.

Eredmények: Sejtalapú módszerek alapján a betegeket KIR- és KIR+ csoportokba soroltuk. A jelenlegi klinikai standardtól eltérő, további csoportosítási megközelítésként 19 beteg diagnosztikus mintájával hierarchikus klaszterezést végeztünk. A miR-181a expresszió alapján a KIR+ betegek túlnyomó többsége 4 további olyan beteggel együtt klasztereződött, akiknél nem volt klinikai bizonyíték idegrendszeri érintettségre. Ez alapján három csoportot hoztunk létre: KIR- és alacsony miR-181a expresszió (KIR-/miR-), KIR- és közepes miR-181a expresszió (KIR-/miR+), valamint KIR+ és magas miR-181a expresszió (KIR+/miR+). A miR-181a expressziója a KIR-/miR+ és KIR+/miR+ csoportokban szignifikánsan különbözött a KIR-/miR- betegektől az összes minta (n=67, KIR-/miR+ vs. KIR-/miR- p=0,020; KIR+/miR+ vs. KIR-/miR- p=0,041), illetve a csak kezelés előtti minták (n=19, KIR-/miR+ vs. KIR-/miR- p=0,010; KIR+/miR+ vs. KIR-/miR- p=0,027) vizsgálata esetén is. *SH2B3* mutációk kizárólag a KIR+/miR+ és KIR-/miR+ csoportban voltak megfigyelhetőek, a KIR-/miR- csoportban nem.

Következtetések: Független populáción történő validálás után a miR-181a expresszió alkalmas diagnosztikus markere lehet a központi idegrendszer leukémiás infiltrációjának. Az *SH2B3* gén idegrendszeri inváziót befolyásoló hatásának megismerése további vizsgálatokat érdemelhet.

Támogatók: FK20_134253, K21_137948, BO/00125/22, ÚNKP-22-5-SE-7, ÚNKP-22-4-I-SE-11, H2020-739593, EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, KDP-2020-1008491, TKP2021-EGA-24, TKP2021-NVA-15, Richter Gedeon Kiválósági PhD Ösztöndíj, Magyar Gyermekonkológiai Hálózat, Elixir Hungary

Új biomarkerek azonosítása átfogó molekuláris profilozással gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában: A Magyar Gyermekleukémia Molekuláris Profilozási Program első három évének eredményei

Péterffy Borbála¹, Krizsán Szilvia¹, Bedics Gábor¹, Egyed Bálint^{1,2}, Bekő Anna¹, Nagy Tibor^{1,10}, Hegyi Lajos László¹, Erdélyi Dániel János², Müller Judit², Jakab Zsuzsanna², Péter György³, Zombori Marianna³, Csanádi Krisztina³, Ottóffy Gábor⁴, Csernus Katalin⁴, Vojcek Ágnes⁴, Tiszlavicz Lilla Györgyi⁵, Gábor Krisztina Mita⁵, Kelemen Ágnes⁶, Hauser Péter⁶, Kállay Krisztián⁷, Kertész Gabriella⁷, Kriván Gergely^{7,12}, Gaál Zsuzsanna⁸, Szegedi István⁸, Márk Ágnes¹, Hevessy Zsuzsanna⁹, Ujfalusi Anikó⁹, Kajtár Béla¹¹, Timár Botond¹, Kiss Csongor⁸, Kovács Gábor², Matolcsy András¹, Bödör Csaba¹, Alpár Donát¹

¹ Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék, HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Budapest;

² Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Tűzoltó utcai részleg, Budapest; ³ Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet, Onkohematológiai Osztály, Budapest;

⁴ Pécsi Tudományegyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Onkohematológiai Osztály, Pécs;

⁵ Szegedi Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermekegészségügyi Központ, Szeged;

⁶ Velkey László Gyermekegészségügyi Központ, Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Központi Kórház Egyetemi Oktatókórház, Miskolc;

⁷ Dél-Pesti Centrumkórház Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Gyermekhematológiai és Óssejt-transzplanációs Osztály, Budapest;

⁸ Debreceni Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Gyermek Hematológia-Onkológiai Osztály, Debrecen;

⁹ Debreceni Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Debrecen;

¹⁰ Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen;

¹¹ Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Patológiai Intézet, Pécs;

¹² Magyar Gyermekonkológiai Hálózat

Bevezetés/Célkritérium: Az akut limfoblasztos leukémia (ALL) a leggyakoribb hematológiai malignitás gyermekkorban. Egyes genetikailag meghatározott alcsoportok esetében a túlélés jelentősen elmarad az átlagtól, így a betegség továbbra is terápiás kihívást jelent. Vizsgálatunk célja a hazai ALL-ben szenvedő gyermekek genomikai és transzkriptomikai profilozása során olyan prognosztikus és/vagy prediktív biomarkerek, valamint esetleges terápiás célpontok azonosítása volt, melyek segíthetik a rizikóadaptált klinikai döntéshozatalt.

Módszer: 150 B-sejtes és 30 T-sejtes ALL-ben szenvedő gyermek diagnóziskori mintáit vizsgáltuk. A mutációs profil meghatározását újgenerációs szekvenálással (NGS) végeztük, 102 ALL-ben releváns gént vizsgáló panel alkalmazásával (QIASeq Targeted DNA Custom Panel). Génfúziók kimutatásához az 1385 gént lefedő TruSight RNA Pan-Cancer Panelt használtuk.

Eredmények: B-ALL-ben leggyakrabban a *KRAS* (18%), *NRAS* (18%) és *FLT3* (10%) génekben, míg T-ALL-ben a *NOTCH1* (59%), *PHF6* (28%), *PTEN* (17%) és *WT1* (17%) génekben azonosítottunk mutációt. Kiemelendő, hogy a betegek 14%-ában detektáltunk mutációt olyan génekben (*FLT3*, *JAK2*, *IL7R*, *CRLF2*), melyek által kódolt fehérjék potenciális terápiás célpontok. RNS-szekvenálással a betegek 40%-ában, azonosítottunk génfúziót, leggyakoribbnak az *ETV6-RUNX1*, *P2RY8-CRLF2*, *STIL-TAL1* és *TCF-PBX1* eltérések bizonyultak. Philadelphia-like alcsoportba tartozó fúziót a B-ALL-es esetek 9%-ában detektáltunk. Öt betegben új, ALL-ben korábban ki nem mutatott génfúziókat is azonosítottunk, melyek többek között a *KMT2A*, *JAK2*, *PAX5* és *RUNX1* géneket érintették. Magas variáns allél frekvenciával (VAF \geq 25%) detektált *TP53* és/vagy *RUNX1* mutáció esetében jelentősen rövidebb 3 éves teljes (OS) és eseménymentes (EFS) túlélés volt megfigyelhető a betegeknél (OS: 92% vs. 50%, p=0,0001; EFS: 87% vs. 50%, p=0,002).

Megbeszélés: A Magyar Gyermekleukémia Genomikai Profilozási Program keretén belül kidolgozott hatékony, nagy áteresztőképességgel bíró NGS módszerek alkalmasak az ALL-ben szenvedő betegek genomikai és transzkriptomikai karakterizálására. Alkalmazásukkal új génfúziók, potenciális terápiás célpontok és magas rizikóval járó alcsoportok azonosítására nyílik lehetőség betegeinkben.

Támogatók: FK20_134253, K21_137948, BO/00125/22, ÚNKP-22-5-SE-7, H2020-739593, EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, KDP-2020-1008491, NKFIH-TKP2021-EGA-24 NKFIH-TKP2021-NVA-15, Richter Gedeon Kiválósági PhD Ösztöndíj, Magyar Gyermekonkológiai Hálózat, Elixir Hungary

P-20

Két patogén variáns sem rosszabb, mint egy? – kettős heterozigóták vizsgálata örökletes emlő- és petefészekrák szindrómához köthető fenotípusú betegek körében

Pócza Tímea¹, Butz Henriett^{1,2,3,4}, Nagy Petra¹, Papp János^{1,3}, Bozsik Anikó^{1,3}, Grolmusz Vince^{1,3}, Budai Barna¹, Patócs Attila^{1,3,4}

¹ Molekuláris Genetikai Osztály és Nemzeti Tumorbíológiai Laboratórium, Országos Onkológiai Intézet, Budapest

² Onkológiai Biobank Központ, Országos Onkológiai Intézet, Budapest

³ Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Budapest

⁴ Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Laboratóriumi Medicina Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Az emlőrákos esetek 5-10%-ában találunk örökletes patogén mutációkat daganat kialakulására hajlamosító génekben, leggyakoribb a *BRCA1/2* gének mutációja (30%). Az új generációs szekvenálás (NGS) és génpanelek korszakában egyre nagyobb számban azonosítanak két vagy több patogén variánst hordozó betegeket. Azonban keveset tudunk a genotípus-fenotípus összefüggésről.

Vizsgáltuk a magyar populációban két vagy több patogén eltérést hordozó családok prevalenciáját örökletes emlő- és petefészekrák szindróma (HBOC)-asszociált daganatot hordozó betegek esetében. Célunk, hogy az ilyen genotípusú családok esetében minél pontosabb képet kapjunk a megbetegedés kockázatáról.

Intézetünkben 2021. szeptembere óta végzünk multigén panelvizsgálatokat. A könyvtárkészítéshez Illumina TruSight Hereditary Cancer Panel kitet használtunk, a szekvenálást Illumina MiSeq és NextSeq550DX készüléken végeztük. Azokat az eseteket tekintettük kettős heterozigótának, amelyekben az NCCN (HBOC, Version 2.2023) és ACMG ajánlásoknak megfelelő génekben találtunk patogén/valószínűleg patogén (P/LP) eltérést. A variánsok klasszifikációjánál az ACMG-AMP ajánlásokat vettük figyelembe.

Összesen 1016 HBOC spektrumba tartozó daganattal rendelkező beteg adataiból 16 (1,6%) esetben azonosítottunk egyidejűleg két P/LP variánst. Az érintett gének (*ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *MSH6*, *PALB2*, *RAD51D* és *SDHAF2*) közül kilenc estében az egyik a *BRCA1/2* gén volt (56,3% a kettős heterozigóták között). Ezek közül mindösszesen egy eset volt *BRCA1/2* kettős heterozigóta. A leggyakoribb P/LP variánst hordozó gén a *CHEK2* volt (10 eset; 62,5%). Ebből hét esetben a második eltérés a *CHEK2* c.470T>C alacsony kockázatú képviselő eltérése. Valódi incidentális, a fenotípussal összefüggésben nem álló találat az *SDHAF2* génben volt. Nem találtunk különbséget, az egy, illetve két P/LP variánst hordozókat összehasonlítva az életkorban ($p=0,65$), és a többszörös primer tumor megjelenése sem volt jellemző több P/LP variáns hordozása esetén ($p=0,20$).

Összegzés. A több P/LP variánst hordozó páciensek nem mutatnak többszörös/agresszívebb megbetegedést. A vizsgált magyar HBOC-s betegekben legnagyobb számban a *BRCA1/2-CHEK2* és *BRCA1/2-MSH6* kombináció fordult elő. A betegek egyéni prognózisának és a betegek hosszútávú követéséhez a többszörös P/LP eltérést hordozóknál a klinikailag legsúlyosabb fenotípusra vonatkozó irányelvek lehetnek iránymutatók.

P-21

A glükokortikoid receptor különböző RNS szekvencia variánsainak eltérő hatása emlőráksejtekben

Saskői Éva¹, **Vereczki Viktória**², Likó István³, Tóth Erika⁴, Cserepes Mihály⁵, Nagy Katalin⁶, Kacs Kovics Imre⁶, Patócs Attila^{1,2,3}, Butz Henriett^{1,2,3,4}

¹ Onkológiai Biobank Központ, Országos Onkológia Intézet, Budapest

² Molekuláris Genetika Osztály és Nemzeti Tumorsejtbiológia Laboratórium, Országos Onkológia Intézet, Budapest

³ Örökletes Daganatok Kutatócsoport, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Budapest

⁴ Daganatpatológiai Központ, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Budapest

⁵ Kísérletes Farmakológiai Osztály és Nemzeti Tumorsejtbiológia Laboratórium, Országos Onkológia Intézet, Budapest

⁶ ImmunoGenes-ABS Ltd., H-2092 Budakeszi, Magyarország

⁷ Klinikai Genetika és Endokrinológiai Laboratórium, Laboratóriumi Medicina Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Bevezetés. Nemcsak a DNS, hanem RNS szekvencia eltérések (splice izoformák) is meghatározzák a keletkező fehérjék funkcióját. A glükokortikoid receptor fő, α izoformája ($GR\alpha$) közvetíti a klasszikus glükokortikoid (GC) hatást. A másik, alternatív splicing következtében keletkező izoforma, a $GR\beta$, rövidebb, valamint a C-terminális 15 aminosava teljesen eltér a $GR\alpha$ -tól. Mivel a különbség a receptor DNS kötő doménjét érinti, a $GR\beta$ a fő izoformával szemben GR antagonistá hatást vált ki.

Célkitűzésünk a GR RNS szekvencia variánsainak (splice izoformáik) funkcionális vizsgálata volt emlőrákban.

Módszerek: A $GR\alpha$ és $GR\beta$ hatásait vektor transzfekciót követően két kontextusban vizsgáltuk emlőrák sejteken: az ösztrogén receptor (ER) jelenlétének, valamint a ligand jelenlétének függvényében *in vitro* funkcionális assay-vel. Az Országos Onkológiai Intézet betegei közül összesen 20 (9 tripla-negatív és 11 luminál A ER+) eset emlőrák mintáin elvégeztük a GR-totál és $GR\beta$ immunfestést.

Eredmények: A $GR\alpha$ fokozta az emlőráksejtek proliferációját, életképességét és migrációját az ER-negatív tumorsejteken. A $GR\beta$ hasonló hatással bírt ER- sejteken, ám az ER+ tumorsejteken fokozta a daganatos sejtek pusztulását.

A GR expresszió magasabb volt ER- emlőtumor sejtekben az ER+-akhoz képest és a GR-transzaktivált gének leginkább a sejtmigrációban játszottak szerepet.

Következtetések: Az azonos DNS szekvencia ellenére a különböző szekvenciájú RNS izoformák is eltérő funkcionális hatást eredményezhetnek. Ez emlőrák esetében ez függött az ER státustól, valamint a daganatsejtek eltérő élő-halott sejtarányában mutatkozott meg. Mindez, valamint, hogy a GR-transzaktivált gének fontos szereppel bírnak a sejtmigráció szabályozásában, felveti a GR RNS szekvenciavariánsok (RNS szintű) vizsgálatának esetleges hasznát emlődaganatos betegekben.

Támogatás: Belügyminisztérium Nemzeti innovációs onkogenomikai és prevenciók onkoterápiás programok elindítása, fejlesztése, NKFIH 2020-1.1.6-Jövő-2021-00008, NKFIH FK135065, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, ÚNKP-22-5-SE-1

Molekuláris vizsgálatok jelentősége az onkohematológiai kórképek diagnosztikájában

Zajta Erik, Gróf Stefánia, Lévy Luca, Sándorné Vángor Mónika, Horváth Róbert, Hegyi Lajos, Timár Botond, Csomor Judit, Bödör Csaba
Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Molekuláris Patológia Tanszék, HCEMM-SE Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport Budapest

Ahogy az onkohematológiai betegségek változatos genetikai hátterének feltárása előre halad, az ide tartozó entitások diagnosztikájában a klinikum ismerete, a szövettani, áramlási citometriai, klasszikus citogenetikai és FISH vizsgálatok mellett egyre jelentősebb teret nyernek a PCR- és szekvenálás-alapú molekuláris genetikai vizsgálatok. Ezek többek között a diagnózis felállításában, a célzott terápiák indikációjában, prognosztikus markerekként, illetve a kezelések hatékonyságának nyomonkövetésében fontos szerepet töltenek be.

A Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet 2001 óta végez molekuláris diagnosztikai vizsgálatokat onkohematológiai betegek részére. Az intézetben működő Molekuláris Onkohematológiai Laboratórium mára országszerte több mint 20 hematológiai centrum munkáját segíti megközelítőleg 8000 PCR és szekvenálás alapú vizsgálat elvégzésével évente.

A beérkező mintákból (leggyakrabban perifériás vér, csontvelő, nyirokcsomó, bőr) kivont DNS és/vagy RNS izolátumokat fragmenthossz analízishez, Sanger-szekvenáláshoz, reverz transzkripciót követő valós idejű kvantitatív PCR-hez, digitális droplet PCR-hez, valamint újgenerációs szekvenáláshoz (Illumina) használjuk fel. A folyamat során klinikai jelentőséggel rendelkező pontmutációkat, inszerciókat/deléciokat, génfúziókat és klonális T-sejt/B-sejt receptor génátrendeződéseket monitorozunk.

Az intézetünkben elérhető közel 40-féle DNS- és RNS-alapú molekuláris diagnosztikai vizsgálattal főként a Philadelphia kromoszóma negatív mieloproliferatív neopláziák, krónikus mieloid leukémiás, krónikus limfocitás leukémiás, akut mieloid leukémiás, mielodiszpláziás szindrómás, Waldenström makroglobulinémiás, follikuláris limfómás valamint B-/T-sejtes leukémiás/limfómás betegeket támogatunk. Ezen kívül a nem tumoros eredetű familiáris hemofagocitás limfohisztocitózisos betegek molekuláris genetikai vizsgálatát is elvégezzük. Újabban az onkohematológiai betegek számára fokozott kockázatot jelentő infekciók diagnosztikáját segítő molekuláris genetikai vizsgálatok beállítását is megkezdjük.

Poszterünk a Semmelweis Egyetem Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében működő Molekuláris Onkohematológiai Laboratórium diagnosztikai profilját, az alkalmazott vizsgálat típusokat és azok mindennapi gyakorlati jelentőségét ismerteti.

P-23

Magyarországi akut intermittáló porfíriás családok molekuláris genetikai vizsgálatai

Bors András¹, Varga Livia¹, Pusztai Ágnes², Szaniszló Judit², Andrikovics Hajnalka¹

¹ Dél-pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Budapest

² Észak-Pesti Centrumkórház - Honvédkórház, Budapest

Bevezetés: Az akut intermittáló porfíria (AIP) egy autoszomális domináns módon öröklődő rendellenesség, amelyet a hidroximetilbilán-szintáz (HMBS, más néven porfobilinogén-deamináz) enzim csökkent aktivitása okoz, amely a hem bioszintetikus folyamatának egyik enzime. A változatos klinikai megnyilvánulások közül a legfontosabb jellemzők az életveszélyes akut neurovisceralis rohamok súlyos hasi fájdalommal. A klinikai tünetek hátterében a *HMBS* gén mutációi állnak. A mutációk kimutatása megerősítheti az AIP diagnózisát olyan helyzetekben, amikor a klinikai adatok nem meggyőzőek, illetve tünetmentes hordozók esetében speciális diéta alkalmazásával megelőzhető az akut rohamok.

Anyagok és módszerek: Jelen tanulmányban 47 nem rokon magyar AIP-s családot vizsgáltunk Sanger szekvenálás és MLPA módszerrel.

Eredmények: Missense mutációt a vizsgált családok közül 23 esetben (49%) észleltünk. Mellettük 1/47 (2%) nonsense, 5/47 (10%) splice-hely, 13/47 (28%) frameshift mutációt azonosítottunk, míg 5 család esetében (10%) Sanger szekvenálással nem detektálható eltérés állhat a háttérben. Egy ismert missense mutáció (p.Gly111Arg; c.331G>A;) 14/47 (30%) nem rokon család esetében fordult elő.

Következtetések: Az eredmények nem térnek el jelentősen a nemzetközi irodalomban és mutációs adatbázisokban szereplő gyakoriságoktól. Több különböző populációban írtak le haplotípus eredményekkel alátámasztott, alapító hatással magyarázott gyakori mutációkat. Spanyolországban a c.669_698del30 20%-os gyakoriságú, illetve a p.Gly111Arg mutáció 56%-os gyakorisággal fordul elő Argentínában. Ez utóbbi mutáció azonban a magyar populáción kívül irodalmi adatok alapján svájci, orosz és német betegek közt is nagy számban kimutatható, ami arra utal, hogy a *HMBS* génben lehetnek mutációs hot-spot régiók.

P-24

Különböző mutációk együttes szerepe egy diverz klinikai manifesztációkkal rendelkező páciensben

Büki Gergely, Bene Judit, Hadzsiev Kinga

Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézet, Pécs

A ritka betegségek számos különböző formája ismert, megnyilvánulásuk rendkívül változatos lehet. A betegek körében megjelenő diverz klinikai manifesztációk sok esetben megnehezítik a pontos diagnózis felállítását. Bizonyos esetekben egy detektált kóroki eltéréshez asszociált rendellenesség nem támasztja alá teljes mértékben a megjelenő tüneteket. Amellett, hogy számos ismert (környezet, életkor, mozaikosság stb.) és jelenleg ismeretlen tényező befolyásolhatja a klinikai képet, feltételezhetően az esetek egy kisebb százalékában különböző mutációk együttes hatása járul hozzá a megfigyelhető tünetek kialakulásához. Az újgenerációs technológiák, mint például a teljes exom szekvenálás (WES), lehetőséget nyújtanak a kóroki mutációk egyidejű azonosítására és az esetleges összefüggések felderítésére, s ezáltal hozzájárulhatnak a teljeskörű diagnózis felállításához.

A betegséget okozó mutáció azonosítása érdekében külföldi laboratóriumban WES történt. A könyvtárkészítés Twist Human Core Exom Kit Library Prep Kit segítségével történt, az előkészített könyvtárak Illumina NovaSeq 6000 rendszeren lettek szekvenálva 100 bp paired-end módban. A kimutatott mutációkat Sanger-szekvenálással validáltuk. A szülők célzott vizsgálatát elvégeztük.

A WES-adatok elemzése során detektáltunk a *PTPRQ* gén 6463-as pozíciójában egy C>T heterozigóta cserét, mely egy ismert, stop kodont kialakító, patogén variáns. Emellett az *RRM2B* gén 271-es pozíciójában egy C>G homozigóta cserét találtunk, mely egy ismeretlen misszenz eltérés, a predikációs szoftverek alapján valószínűsíthetőleg patogén.

Az érintett személyt végstádiumú veseelégtelenség, idegi eredetű hallásvesztés, szenoros neuropathia, valamint cardiomyopathia miatt vizsgáltuk. Klinikai tüneteit feltételezhetően egymástól függetlenül két eltérő génben detektált patogén eltérés okozza. A *PTPRQ* génben előforduló mutációkat az autoszomális domináns öröklődésű halláskárosodáshoz társítják, míg az *RRM2B* génben kialakuló mutációkat az autoszomális recesszív öröklődésű mitokondriális depléciós szindróma 8A-hoz asszociálják. Az NGS alkalmazása jelentősen megkönnyítette a teljeskörű diagnózis felállítását. Feltételezhetően az esetek nagyobb százalékában fordulhat elő, hogy különböző mutációk együtt játszanak szerepet a heterogén tünetegyüttes kialakításában, mint azt korábban feltételezték.

Hogyan látják pácienseink Magyarországon a ritka betegségek járóbeteg rendeléseit?

Csendes Barbara¹, Molnár Mária Judit², Kovács Erika³

¹ SE ÁOK Genomika Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

² SE ÁOK Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

³ Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet, Budapest

A ritka betegségek összetett és gyakran kevésbé ismert jellegük miatt egyedülálló kihívások elé állítják a betegeket és az egészségügyi rendszert. Az időben történő diagnózis, a speciális ellátáshoz való hozzáférés, az átfogó koordináció, a pszichoszociális támogatás és a technológiai innovációk mind hozzájárulnak ezen egyének ellátásának és jólétének optimalizálásához.

Célunk volt felmérni és értékelni a ritka betegek körében az egészségügyi szolgáltatások minőségét a betegelégedettségi kérdőívek elemzésén keresztül.

Jelen keresztmetszeti vizsgálat online kérdőív-battériája a betegszervezetek bevonásával került megosztásra, amit a feldolgozásig 150 ritka beteg anonim módon önkéntesen töltött ki. A kérdőívben a következő területekre kérdeztünk rá: a kórházi felvétel körülményei, az ellátásokra való várakozás, az ellátás fizikai körülményei, az orvosok, ápolók kommunikációja, az információnyújtás, betegtájékoztatás, és a gyógyszerelés. Szocio-demográfiai adatok (válaszadó neme, életkora, iskolai végzettsége) mellett a fenti domének az elégedettséget összegző szempontokkal egészülnek ki, mint hogy a beteg probléma esetén szívesen visszatérne-e az intézménybe, illetve ajánlaná-e a kórházat másoknak is. A kérdőíveket 119 nő és 31 férfi beteg töltötte ki. A 150 válaszadónak több, mint fele 41-60 év közötti volt, míg 28%-ban 18-40 év közöttiek voltak. A felmérés eredményei alapján kiemelkedően rossz értékelést kapott a tájékoztatás és információnyújtás.

A betegektől származó adatok nemcsak a klinikai vizsgálatok végpontjaiként, hanem a betegellátás minőségének monitorozásában is mind fontosabb szerepet játszanak. Ezen adatok lehetővé teszik az egyének számára, hogy aktívabb szerepet vállaljanak az egészségügyi ellátásukban. A hasonló mérések jelentősége abban állhat, hogy megfelelő visszacsatolást adnak a fejlesztések prioritizálásához a befolyásolható tényezők feltárásán keresztül.

P-26

A DNM2 gén intracelluláris funkciójának vizsgálata siRNS modell segítségével

Gál Anikó¹, Szabó Fruzsina¹, Gézsi András¹, Süvege Anna¹, Traege Domonkos¹, Bató Emese², Vellai-Takács Krisztina³, Molnár Mária Judit¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest*

² *Xenovea Kft, Szeged, Hungary*

³ *Eötvös Loránd Tudományegyetem, Embertani Tanszék*

Háttér: A Dynamin2 fehérje (DNM2) sokféle sejtbiológiai szereppel bír. A DNM2 egy nagyméretű GTPáz, amely részt vesz a membrán transzportban és a klatrin mediálta endocitózisban, valamint a DRP1 proteinnel együtt a mitokondriális fisszióban. Jelen vizsgálatban a DNM2 depléciónak hatását vizsgáltuk HeLa sejteken siRNS csendesítés után. A DNM2 depléciónak blokkolja a mitokondriális osztódást, és megnyúlt, hiperfuzionált mitokondriális hálózatot eredményez.

Metodika: Az siRNS csendesítést követően annak hatékonyságát valós idejű PCR és Western blot segítségével elemeztük. A megfelelően transzfektált mintákon RNS-szekvenálást végeztünk. Bioinformatikai elemzés során az mRNS-expresszió változásaira összpontosítottunk. A magas szignifikanciát mutató gének expresszióját real-time PCR metodikával Taqman génexpressziós assay-k segítségével validáltuk.

Eredmények: A siRNS géncsökkentést 3 különböző siRNS-sel végeztük. A kísérletekhez kontrollként scrambled siRNS-t és nem transzfektált HeLa sejteket használtunk. A siRNS csendesítés 12 gén expressziójában mutatott erős szignifikáns változást. Ezek a gének részt vesznek a citoskeletális funkció és a membrán transzportban, az izomműködés és a szteroid biogenezis szabályozásában, így közvetve módosíthatják a mitokondriumok dinamikáját.

Konklúzió: A DNM2-depléciós mintákban az *FBLIM1*, *KRT13*, *KRT19*, *TMEM139*, *TMEM45A* gének downregulációja részt vesz a citoskeletális funkcióban és az intracelluláris membrán transzportban, így ezek közvetve módosíthatják a mitokondriális dinamikát. A *TNNC1* fontos szerepet játszik az izomműködés szabályozásában, így az észlelt expressziócsökkenés a centronukleáris magok kialakulásával állhat összefüggésben. A koleszterin- és szteroid-bioszintézisben szerepet játszó *CYP4F3* gén expressziója szintén szignifikánsan csökkent. Megemlítendő, hogy a DNM2-pozitív betegeknél számos endokrin rendellenesség fordul elő, ami a szteroid-biogenezis zavarával magyarázható. A fenti gének és a DNM2 további kapcsolatának vizsgálata jelenleg folyamatban van.

A vizsgálatok az NKFIH_32812 és a UNKP-21-5 pályázati támogatással valósultak meg.

P-27

582 887 Non-Invazív Prenatális Tesztelés (NIPT) során kapott ritka kromoszómális eltérések egyes kromoszómákra vonatkoztatott jelentőségének vizsgálata

Kónya Márton^{1,2}, Czibalmos Ágnes^{1,3}, Lőczy Lotti^{1,4}, Koi Tamás¹, Caner Turan¹, Hegyi Péter¹, Várbiro Szabolcs^{1,4}, Gál Anikó^{1,2,3}

¹ Transzlációs Orvostudományi Központ, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország

² Czeizel Intézet, Budapest

³ Genomikai Orvostudományi és Ritka Rendellenességek Intézete, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország

⁴ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország

Háttér: A teljes genom nem invazív prenatális tesztelése (GW-NIPT) nemcsak a gyakori autoszómális triszómiák (T21, T18 és T13) és ivari kromoszóma aneuploidiák, hanem a ritka autoszómális triszómiák (RAT) és a strukturális kromoszóma-rendellenességek (SCA) esetében is pozitív eredményt adhat. Jelenleg az irodalomban nem áll rendelkezésre elegendő információ a RAT és SCA pozitív esetek pozitív prediktív értékéről (PPV).

Célkitűzés: Meta-analízisünk célja a pontosabb, kromoszómánkénti rizikóértékek meghatározása nagyszámú terhespopuláción végzett kutatás alapján.

Módszerek: Vizsgálatunkban a ritka kromoszóma-rendellenességek pozitív eseteinek szűrés jelentőségét és a terhesség kimenetelét vizsgáltuk olyan publikációk alapján, ahol GW-NIPT-vizsgálatot végeztek. A szisztematikus áttekintést és meta-analízist a PRISMA 2020 iránymutatással szerint végeztük.

Eredmények: Vizsgálatunkban 14 tanulmányt elemeztünk, amely során összesen 582 887 GW-NIPT eredményt dolgoztunk fel. Ezek közül ritka autoszómális triszómiára nézve pozitív eredmény 1417 esetben igazolódott. A gyakoriságra vonatkozó összesített arány RAT esetében 0.00278 (95% CI: [0.00188, 0.00411]), míg SCA esetén 0,00163 (95% CI: [0,00079, 0,00335]). A genetikai vizsgálattal megerősített, valódi pozitív esetek alapján számolt összesített PPV érték 6%, míg a kevésbé szigorú módszertannal (valódi pozitív esetek: genetikai vizsgálattal megerősített esetek, méhen belüli magzati halál és ultrahangos rendellenesség miatti terhességmegszakítás) a PPV 12% volt, de az a PPV érték kromoszómánként jelentős változást mutat.

Következtetés: Jelen tanulmányunkkal kimutattuk, hogy a NIPT pozitivitás, és a pozitív prediktív érték, jelentős különbségeket mutat az egyes kromoszómák esetén. A rutinszerű GW-NIPT-szűrés során ez az ismeretanyag nagyban segíti a pre- és poszt-teszt genetikai tanácsadást és a betegek felkészítését a várható invazív vizsgálatokra.

Alfa-galaktozidáz egy-sejt szintű enzimaktivitás detektálásához GLA KO T-sejtes sejtvonal létrehozása és validálása

Li Luca Kamilla¹, Fekete Nóra², Kovács Sándor¹, Ruzsics Dalma¹, Erhardt Júlia¹,
Abonyi Tünde¹, Nagy Bence², Fekete György¹, Pállinger Éva², Kovács Árpád Ferenc¹

¹ Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika Tűzoltó utcai részleg, Budapest

² Semmelweis Egyetem Genetika, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

Bevezetés: A leggyakoribb lizoszomális tárolási betegségben, a Fabry-betegségben, a galaktozidáz alfa (GLA) gén által kódolt alfa-galaktozidáz (AGAL) enzim hiányzik vagy biológiai aktivitása kórosan módosult. A jelenleg diagnosztikában alkalmazott ELISA-alapú átlagos enzimaktivitás nők esetében igen korlátozottan alkalmazható.

Célkitűzés: Új, egy-sejt szintű AGAL enzimaktivitás detektálására alkalmas áramlási citométeres esszé fejlesztéséhez szükséges Jurkat T-sejtes sejtvonalban célzott GLA génkiütött sejtvonal létrehozása.

Anyag és módszer: A GLA 1. exonjára tervezett 3 irányító RNS (sgRNS) tervezését követően, Jurkat (E6.1 klón) T-sejtes sejtvonalban CRISPR-Cas9-alapú nukleofekcióval transzfektáltuk a sejteket. A hígítási-alapú egy-sejt klónozással létrehozott tiszta Jurkat GLA KO sejtvonal transzfekciós validálását DNS szinten teljes-exom szekvenálással, RNS szinten qPCR-rel, az enzimaktivitást pedig globotriaozil-ceramid szubsztrátfelhalmozódás elemzésével végeztük.

Eredmények: A Jurkat sejtek fehérjeexpressziós vizsgálata alapján T-sejteknek megfelelő expressziós mintázatot azonosítottunk, valamint PCR-alapú módszerrel a mycoplasma fertőzést kizártuk. A sejtek közvetlen poszt nukleofekciós transzfekciós hatékonysága 41,46%, míg a transzfektált sejtek viabilitása 95% feletti volt. Az egy-sejt klónok expanzióját követően a kiválasztott GLA KO klón validálása DNS szinten a seq[GRCh38] NC_000023.11(NM_000169):g.101,407,776_101,407,812del megtörtént, illetve a fehérjét kódoló génekben szerkesztés nem történt. A klónban RNS szinten nem volt detektálható a GLA expressziója. Az enzimaktivitás mérés során jelentős intracelluláris szubsztrátfelhalmozódás volt megfigyelhető a Jurkat sejtekben.

Diszkusszió: A nukleofekcióhoz tervezett gRNS specifitás ellenőrzésének céljából *in silico* off-target analízist végeztünk. Az off-target analízis során az 1-4 nukleotid részleges komplementaritási hasítóhelyeket elemeztük, de nem találtunk a génszerkesztett sejtvonalban a célszekvencián kívüli eltérést.

Következtetés: AGAL egy-sejt szintű enzimaktivitás fejlesztéséhez alkalmas Jurkat GLA KO sejtvonalat hoztunk létre, amelyet multiomikai vizsgálatokkal sikeresen validáltunk.

*Finanszírozás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal OTKA PD138521
Humán Genomért Alapítvány 2022/2023 kutatási pályázata*

P-29

Az FDXR mitochondriális flavoprotein deficiencia phenotypusának és kezelési lehetőségeinek bemutatása saját esetünk kapcsán

Massziné dr. Koller Júlia, Balicza Péter, Palásti Ágnes, Molnár Mária Judit
Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

Az FDXRgén a ferredoxin reduktázt, egy mitochondriális flavoproteint kódol, amely a NADPH-ról szállít elektronokat citokróm P450-eknek. Részt vesz vas-kén csoportok biogenezisében és szteroid szintézisben. A vas-kén egységek mindenütt jelen lévő kofaktorok, számos sejtfolyamatban fontos szerepet játszanak, génátírás szabályozásában is részt vesznek. A vas és a kén szállítása a vas-kén csoportok bioszintéziséhez nagyon szigorúan szabályozott. Humán mitokondriális betegség asszociációja 2017 óta ismert.

Esetbemutató: a 38 éves férfibetegnek születése óta ismert a ptosis. Mozgásfejlődése rendben volt, beszédfejlődése kissé megkésett. Látászavara 12 éves korában kezdődött a látótér beszűkülésével. Hypoacusis 18 évesen kezdődött. Ekkortájt indul egyensúlyzavara is. Kb 20 éves korától személyisége megváltozott, autizmus spektrum betegség tünetei bontakoztak ki.

Jelen neurológiai statusából mko súlyos vízús csökkenés, körkörös beszűkült látóterek, dysarthriás beszéd, mko súlyos idegi eredetű hypoacusis, az avt-ban distalis enyhe paresis, spasticitás, fokozott sajátreflexekkel, súlyos mélyérzészavar, kifejezett törzs és végtagataxia emelendő ki. Magatartása liberált. Koponya MRI-n perietalis cerebralis és cerebellaris atrophia, occipitalisan polymicrogyria ábrázolódott. Az izombiopsziában enyhe mitochondrialis dysfunctio jelei voltak láthatóak. Családjában volt hallássérült és látássérült. WES vizsgálata az FDXR génben compound heterozigóta mutációt : c.472G-A (p.Val 158Met), és c.683G-T (p.Arg228Leu) talált.

A beteget off label idebenone-nal kezdtük el kezelni. Az FDXR génnel folynak génterápiás kutatások. Fdxr mutáns egerekben már javulást értek el. Ez irányú klinikai vizsgálatok még csak most indulnak.

P-30

A nemszindrómás hallásvesztés genetikai hátterének meghatározása cochleáris implantátummal rendelkező Magyarországi populációban

Pál Margit^{1,2,*}, Nagy Dóra^{1,3,*}, Neller Alexandra^{1,2},
Farkas Katalin¹, Leprán - Török Dóra¹, Nagy Nikoletta^{1,2}, Füstös Dalma¹,
Nagy Roland⁴, Rovó László⁴, Kis József Géza^{4,#}, Széll Márta^{1,2,#}

¹ Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Orvosi Genetikai Intézet, Szeged

² HUN-REN-SZTE Funkcionális Klinikai Genetika Kutatócsoport, Szeged

³ Institute of Medical Genetics, Kepler University Hospital Med Campus IV, Johannes Kepler University Linz, Linz, Austria

⁴ Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Fül- Orr- Gégészeti és Fej- Nyaksebészeti Klinika, Szeged

* Ezek a szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá a munkához.

Ezek a szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá a munkához.

Bevezetés:

A halláskárosodás a legelterjedtebb érzékszervi rendellenesség, amely világszerte emberek millióit érinti, előfordulása az újszülöttek körében 0,1-0,2%. A legtöbb veleszületett, nem szindrómás halláscsökkenést (NSHL) örökletes tényező okozza. Korábban a vizsgálatok többsége a *GJB2* gén által kódolt Connexin 26 fehérjére összpontosított, azonban az új generációs szekvenálási (NGS) módszerek fejlődésével nagy előrelépés történt új kóroki gének variánsainak azonosításában.

Vizsgálatunk célja a leghatékonyabb szűrési eljárás kidolgozása volt egy magyar NSHL-populációban.

Módszerek:

Tanulmányunkba 139, egymással rokon kapcsolatban nem álló NSHL-beteget vontunk be. A páciensek vagy már cochleáris implantátummal rendelkeztek vagy várományosai voltak annak. Vizsgálatunkban egy lépésről lépésre haladó, átfogó genetikai megközelítést alkalmaztunk. A folyamat a *GJB2*, *GJB3* és *GJB6* gének Sanger szekvenálásával kezdődött, majd MLPA analízist és egy 108 HL-gént tartalmazó NGS-panellel történő elemzést tartalmazott.

Eredmények:

A genetikai diagnózist 99 betegnél sikerült felállítanunk, ami összességében 71%-os diagnosztikai eredmény. A *GJB2* gén célzott szekvenálása és az MLPA vizsgálat az esetek 50%-ában azonosította a NSHL genetikai hátterét. Az NGS panel további 21%-kal növelte a diagnosztikai hatékonyságot. A diagnosztizált esetek túlnyomó többsége autoszomális recesszív öröklődés menetet mutatott (86%). Az esetek 68%-ában a *GJB2* gén eltérése volt a kóroki tényező.

Következtetés:

Az alkalmazott kaszkád elemzés jelentősen növelte a diagnosztikai hatékonyságot a csak a *GJB2* gén analízisére korlátozódó vizsgálatokhoz képest. A diagnosztikai hatékonyság valószínűleg még tovább javítható lenne teljes exom-szekvenálás (WES) alkalmazásával. Reményeink szerint a közeli jövőben a személyre szabott terápiák elengedhetetlen része lesz a körültekintően kivitelezett, költséghatékony genetikai vizsgálat.

Understanding Hereditary Spastic Paraplegias: characterization of an SPG9 patient's fibroblast cell line

Ramadan Sherin¹, Evangelisti Cecilia^{1,2} Evangelisti Camilla³,
Cappellini Alessandra³, Francesca Valenti⁴, Bergamini Christian⁴, Panza Emanuele^{1,2}
¹ *Department of Medical and Surgical Sciences, University of Bologna, Italy*
² *Medical Genetics Unit, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Bologna, Italy*
⁴ *Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, University of Bologna, Italy*³ *Department of Pharmacy and Biotechnologies, University of Bologna, Italy*

Introduction. Hereditary Spastic paraplegias (HSPs) are a heterogeneous group of diseases which significantly impact patients' quality of life, accounting for more than 80 forms. Spastic Paraplegia type 9 (SPG9) is caused by mutations in the *ALDH18A1* gene that encodes for the mitochondrial P5CS enzyme. This enzyme catalyzes the first two steps in the conversion of glutamate to an intermediate that leads to proline synthesis and to the urea cycle. This mutation is associated to a complex phenotype in which spastic paraplegia is complicated by congenital cataract, persistent vomiting, amyotrophy, joint laxity, reduced plasma levels of citrulline, arginine, ornithine, proline, and hyperammonemia.

Aim of the study. The principal aims of this study are the characterization of the p.Val423Leu (NM_002860.4: c.727G>C) pathogenic variant in *ALDH18A1* gene in fibroblasts derived from a SPG9 patient and the investigation of valuable therapeutic strategies.

Methodology. Fibroblasts were obtained from skin biopsies of a SPG9 patient bearing the pathogenic p.Val243Leu variant and controls. Fibroblasts dimensions were evaluated by phalloidin immunofluorescent staining. Cell cycle was studied by means of flow cytometry analysis of propidium iodide staining. Proliferation was determined through direct count by Trypan blue dye exclusion method and MTT assay. Ultrastructural analysis was performed through transmission electron microscopy method.

Results. Patients' fibroblasts differ in morphology from controls. Additionally, p.Val243Leu variant markedly impairs cell growth, as demonstrated by cell proliferation and cell cycle analyses, and ATP production. The supplementation with the aminoacid Arginine partially rescued the growth phenotype.

Conclusions. Our study demonstrated that the p.Val243Leu fibroblasts showed a smaller size compared to controls and displayed impairments of growth and ATP production. The incubation with Arginine induced a partial recovery of cell viability that are worth to be further investigated.

P-32

A lysosomalis tárolási betegségekkel asszociált gének és egyéb ritka betegség asszociált gének ritka variánsainak együttes hatása

Szlepák Tamás^{1,2}, Kálmán Bernadette³, Sepp Róbert⁴, Molnár Mária Judit^{1,2}

¹ Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

² Multiomikai Neurodegeneráció Kutatócsoport ELKH

³ Pécsi Tudományegyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Pécs

⁴ Szegedi Tudományegyetem, II. számú belgyógyászati klinika és kardiológiai központ, Szeged

Bevezetés: A lysosomalis tárolási betegségek (LSD) monogénes kórképek, amelyek leggyakrabban AR módon öröklődnek. Azonban több LSD asszociált gén monoallélikus eltérései ettől eltérő fenotípussal is összefüggésbe hozhatóak. A *GBA1* gén heterozigóta ritka variánsai (RV) a legjelentősebb genetikai rizikófaktorként ismertek a Parkinson-kórban. Hasonló hatás feltételezhető a Niemann Pick A/B (ASMD) betegséget okozó *SMPD1*, a Gaucher-kórhoz hasonló fenotípust is okozó *PSAP* gén esetén, valamint más lysosomával kapcsolt biokémiai útvonalakban szereppel bíró gének esetén is. A nagy áteresztő képességű genomikai teszteknek köszönhetően egyre több esetben találunk több génben is olyan ritka variánsokat, melyeknél gén-gén interakciós hatás feltételezhető a manifesztálódó fenotípusban.

Cél: A LSD-t okozó gének ritka variánsaihoz társuló más ritka betegség asszociált génekben talált ritka variánsok hatásának elemzése.

Betegek és módszertan: Intézetünk ritka betegség regisztere adatainak, valamint a hazai Pompe, Fabry és *SMPD1* betegek genetikai adatainak szisztematikus elemzése során azon betegeket azonosítottuk, akik legalább egy heterozigóta károsító ritka variáns mellett további ritka betegség asszociált gének mutációjával rendelkeznek. Az intézetünkben nyilvántartott 30 *GBA*-asszociált PD, valamint 8 Gaucher-kór, 52 Fabry, 24 Pompe, 7 ASMD betegség irányában vizsgált eset genetikai hátterét elemeztünk. A betegek kb 30%-nak volt targetált panel vagy WES vizsgálata.

Eredmény: Összesen 7 esetben találtunk együttesen előforduló mutációkat. Négy esetben *GBA*-asszociált PD-ben *SMPD1*, *SPG11*, *SNCA* vagy második *GBA1* ritka variánst azonosítottunk. Egy heterozigóta *C19orf12* asszociált NBIA betegben *SMPD1* ritka variáns színezte a klinikai képet. Egy Gaucher betegség enyhe tünetei miatt vizsgált betegben a *GBA1* RV mellett egy *GAA* pesudodeficiencia allélt találtunk, mely szignifikánsan csökkentette az alpha-glucosidase szintet. Egy *GLA* RV-t hordozó nőbetegnél társuló *MYBPC3* patogén variáns is igazolódott.

Konklúzió: Az átfogó targetált NGS, WES/ WGS vizsgálatok korszakában az együttesen jelenlévő ritka variánsok klinikai hatásának értelmezése nagy kihívásokat jelenthet, mind a patomechanizmus megértése, mind a betegek genetikai tanácsadása és kezelése szempontjából.

Az mtDNS deléciók szerepe az inzulinrezisztencia, a PCOS és az infertilitás hátterében

Várhegyi Vera^{1,2}, Horváth Eszter Mária³, Gerszi Dóra², Sipos Miklós², Molnár Mária Judit¹, Várbíró Szabolcs², Gál Anikó¹

¹ Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

³ Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

Bevezetés: A legújabb szakirodalmi adatok szerint a mitokondriális diszfunkció fontos szerepet játszik az inzulinrezisztencia, a policisztás ovárium szindróma (PCOS), illetve az ezen kórképekhez társuló infertilitás patomechanizmusában. Kutatásunk során a leggyakoribb mtDNS-eltérések jelenlétét vizsgáltuk a fenti kórképek hátterében.

Módszerek: 91 meddőségben és inzulinrezisztenciában vagy policisztás ovárium szindrómában szenvedő női páciens mintáit elemeztük (átlagéletkoruk: 35,6 év). Olyan betegeket vontunk be, akiknek klinikai tünetei és családi anamnézise felvetette a mitokondriális diszfunkció lehetőségét. A DNS-izolálást vérből és vizeletlaphámsejtekből végeztük el. A mitokondriális DNS-deléciók jelenlétét long-range PCR segítségével elemeztük.

Eredmények: A 91 vizsgált személy közül 47 betegnél multiplex mtDNS-deléciót, 10-nél pedig egyszeres deléciót találtunk, tehát összesen 57 esetben igazoltuk az mtDNS-deléció jelenlétét.

Az mtDNS deléció jelenléte erősebb korrelációt mutatott az életkorral, a BMI-vel és az AMH-val, a negatív esetekhez képest. Az eltérésre pozitív betegeknél az egyéni anamnézis és a páciensek által kitöltött kérdőívek adatai alapján a deléció-negatív páciensekhez képest magasabb volt a többszervi érintettség előfordulása. Az mtDNS-deléciós betegek közvetlen vérrokonai között multiszisztémás tünetek gyakrabban fordulnak elő, mint a delécióra negatív páciensek vérrokonai esetében.

Következtetés: Az inzulinrezisztenciában vagy policisztás ovárium szindrómában és ezek mellett meddőségben is szenvedő betegeink 62,6%-ánál találtunk multiplex vagy egyszeres mtDNS-deléciót, ami a felveti a mitokondriális diszfunkció fontos szerepét a klinikai tüneteik hátterében. Vizsgálataink segíthetnek az inzulinrezisztencia és a policisztás ovárium szindróma molekuláris patomechanizmusának megértésében. A mitokondriális útvonalak szisztematikus analízise később lehetővé teheti, hogy új biomarkereket és terápiás célpontokat azonosítsunk az IR-ben, PCOS-ben és meddőségben betegek standardizált kezeléséhez.

Támogatások: A kutatás az NKFIH_132812, UNKP-22-5 és STIA-OTKA-2021 pályázatok segítségével valósult meg.

P-34

Az Usher-szindróma genotípus-fenotípus spektruma genotipizált eseteink alapján

Végh András¹, Lesch Balázs¹, Vámos Rita¹, Zobor Ditta¹, Takács Péter István¹,
Varsányi Balázs¹, György Bence², Rivolta Carlo², Nagy Zoltán Zsolt¹, Szabó Viktória¹

¹ Semmelweis Egyetem, Szemészeti Klinika, Budapest

² Molekuláris és Klinikai Szemészeti Intézet, Bazel, Svájc

Bevezetés: Az Usher-szindróma autoszómális recesszív módon öröklődő tünetegyüttes, amely szemészeti szempontból szindrómás retinitis pigmentosa képében jelentkezik. Az Usher szindrómának három fő típusa ismert, melyben a látásromlás mellett a halláscsökkenés a jellemző tünet.

A szindróma I. típusának hátterében a *MYO7A*, *USH1C*, *CDH23*, *PCDH15*, *USH1G* és *CIB15* gének; a II. típusban *ADGRV1*, *USH2A*, és a *WHRN* gének; míg a III. típusban a *CLRN1* gén biállélikus mutációi ismertek. Újabban a szindróma IV. típusát is megkülönböztetik, amely az *ARSG* gén mutációihoz kötött. A szerzők célja a hallásromlással és retinitis pigmentosára jellemző tünetekkel jelentkező betegek részletes szemészeti funkcionális és eszközös vizsgálata, valamint genotipizálása volt.

Anyag és módszer: A szerzők a Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinikáján működő szemészeti genetikai szakrendelésen jelentkező több mint 300 beteget vizsgáltak standard szemészeti vizsgálómódszerekkel és multimodális képalkotókkal. A jellemző klinikai képet mutató páciensek diagnosztikus célú genotipizálása újgenerációs szekvenálással (*NGS*, *Illumina NextSeq* készülék, *Retinal Dystrophy Targeted Panel*), a variánsok validálása Sanger szekvenálással történt.

Eredmények: a vizsgálatban 50 Usher-szindrómában szenvedő beteget sikerült identifikálni, akik közül 3 esetben *MYO7A* gén, 42 esetben az *USH2A* gén, 4 esetben az *ADGRV1* gén, míg 1 esetben az *ARSG* gén biállélikus mutációi igazolódtak.

Következtetés: A részletes klinikai, képalkotó és elektrofiziológiai vizsgálatokkal ill. a genotipizálás elvégzésével mind a fenotípus, mind a genotípus dokumentálása megtörtént. Az előadásban szó lesz a génterápiás fejlesztéseket célzó kutatásokról is.