

A Magyar Humángenetikai
és Genomikai Társaság

XII. Kongresszusa

Debrecen,
2018. szeptember 6 - 8.

Programfüzet

mhgt



MAGYAR
HUMÁNGENETIKAI
TÁRSASÁG

Az MHGT XII. Kongresszusának szponzorai



Biocenter Kft.



BioMarker Kft.



Biomedica Hungaria Kft.



CheBio Fejlesztő Kft.



*DeltaGene Molekuláris
Diagnosztikai Laboratórium*



GeneTICA Kft.



Izinta Kereskedelmi Kft.



Kromat Kft.



Merck Kft.



New Era Genetics Kft.



PentaCore Laboratórium



PentaGen



Roche (Magyarország) Kft.



TS Labor Kft.

Tartalomjegyzék

Köszöntő	5
Általános tájékoztató	6
Program	
csütörtök	8
péntek	9
szombat	17
Absztraktok	23

Tisztelt Kollégák!

A Debreceni Egyetem üdvözli Önöket a XII. MHGT Kongresszus alkalmából, melyre minden érdeklődőt szeretettel várunk!

A genetika központi szerepe a modern betegellátásban immáron megkérdőjelezhetetlen. Nincs olyan diszciplína, melynek ne lenne genetikai aspektusa, a genetikai tesztek átszövik a gyógyítás minden területét. Népegészségügyi jelentőségű preszimptomatikus, prediktív, farmakogenetikai információtartalma miatt egyre több ország indít nagy genetikai programokat. A technológiai fejlődés töretlen, az új generációs DNS szekvenálási technikák bevonultak a rutin genetikai diagnosztikába.

A Kongresszus fő célja, hogy a humán genetikát alapkutatói, K+F vagy egészségügyi szinten művelő szakemberek, kutatók szakmai tudásukat egymással megosszák, a határterületek bemutatásával pedig a transzláció erősítését tartjuk prioritásnak. Ez utóbbira garancia a neves meghívott előadók és a hazai klinikai genetikai műhelyek vezetői által tartott referátumok.

Biztosak vagyunk abban, hogy a XII. MHGT Kongresszus színvonalas előadásoknak és komoly tapasztalat cserének ad majd helyet. A szakmai program biztosítása mellett arra is törekszünk, hogy résztvevők jól érezzék magukat. Ehhez ad megfelelő háttérrel Debrecen városa és Magyarország egyik legszebb egyetemi campusa.

Szeretettel várjuk!

Balogh István
a Kongresszus elnöke

Szell Márta
az MHGT elnöke

Általános tájékoztató

A XII. MHGT Kongresszus elnöke
Balogh István

A Kongresszus védnökei
Berényi Ervin,
Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, elnök
Mátyus László,
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, dékán

A Tudományos Bizottság tagjai
Balogh István
Ujfalusi Anikó
Oláh Éva
Török Olga
Nagy Bálint
Szakszon Katalin

A Szervező Bizottság tagjai
Balogh István
Ujfalusi Anikó
Török Olga
Nagy Bálint
Szakszon Katalin
Bessenyei Beáta
Orosz Orsolya
Dézsi Ágota

Kongresszusi szervező iroda



EKHO'94 Kft., 4032 Debrecen,
Babits Mihály u. 8.

Általános információk

Kongresszus időpontja: **2018.09.06–08.**

Kongresszus helyszíne:

Debreceni Egyetem

Csütörtök (09. 06):

Főépület (Egyetem tér 1.)

Péntek, szombat (09. 07 – 08):

Általános Orvostudományi Kar, In Vitro Diagnosztikai Tömb
(Nagyerdei krt. 98.)

A helyszíni regisztrációs iroda nyitva tartása:

2018. szeptember 06. csütörtök 14.00-

2018. szeptember 07. péntek 7.30-

2018. szeptember 08. szombat 7.30-

Részvételi díj a helyszínen: 35 000 Ft

Ebéd

A Kongresszus időtartama alatt több ebédelési lehetőség áll rendelkezésre. A közelben kiváló éttermek (Pálma, Krúdy) található. Lehetőség van pénteki napon a Campus területén lévő Nagyerdei étteremben történő étkezésre a la carte alapján. A szombati napon a Régi Vigadó a Kongresszus résztvevői számára menüt biztosít 1400 Ft-os áron.

Előadás típusok

A Kongresszuson a megnyitó szekció meghívott referátumain túl négy előadástípust határoztunk meg. A felkért nyitó előadást, mely 15 perc és vita nem követi, az adott témát mélyen ismerő előadó tartja. A normál (nem jelölt) előadások 7 percesek, melyet 3 perc vita követ. Korábbi kongresszusokhoz hasonlóan fontosnak tartjuk a tudományos kutatómunka szóbeli prezentációját, ezért a poszternek beküldött/elfogadott absztraktok ún. rövid előadás formájában kerülnek bemutatásra. Ezek az előadások 3 percesek, melyet 2 perc vita követ. Végül, a szponzorált előadás 20 perces, az előadást követően vita nincs.

Program

Szeptember 6., csütörtök

Helyszín: Debreceni Egyetem, Főépület, Aula, Debrecen, Egyetem tér 1.

Regisztráció: 14.00-tól

Megnyitó: 16.00 – 18.00

Köszöntők:

Mátyus László, Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, dékán
Berényi Ervin, Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, elnök
Széll Márta, MHGT elnök
Balogh István, a Kongresszus Elnöke

Tudományos referátumok:

Margarida Amaral (University of Lisboa, Faculty of Sciences, BioISI-Biosystems & Integrative Sciences Institute, Lisboa, Portugal): Novel personalized approaches to treat cystic fibrosis

Eli Sprecher (Department of Dermatology, Tel Aviv Sourasky Medical Center, Tel Aviv, Israel): Peeling off the complexities of peeling skin syndromes

Oláh Éva (Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Gyermekgyógyászati Intézet): Vissza a fenotípushoz - Genotípus-fenotípus összefüggések genetikai betegségekben

Muszbek László (Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék): Öröklött haemosztázis rendellenességek komplex jellemzése

Ünnepi műsor:

Pendely Énekegyüttes, a 2017-es Fölszállott a páva győztese „Énekes szólisták és énekegyüttesek” kategóriában

Az együttes tagjai: Szepesi Emese, Baló Anna, Bíró Nelli, Rácz Boglárka, Fekete Boglárka, Bartók Boglárka, és Végh Orsolya
Szakmai vezetők: Sáriné Szebenyi Judit és Tóth Lilla

Állófogadás: 18.00 – 20.00

Szeptember 7., péntek

Helyszín: Debreceni Egyetem, Klinikai Központ,
In Vitro Diagnosztikai Tömb, Debrecen, Nagyerdei krt. 98.
Tömegközlekedéssel megközelíthető, az 1-es villamos
Klinika állomásától 3 perces sétára található.

Regisztráció: 07.30-tól folyamatosan

8.00–10.00

Kohorsz vizsgálata monogénes betegségekben

Elnök: Tímár László, Balogh István

Helyszín: Nagyelődó

8.00–8.10

Az antitrombin deficiencia molekuláris genetikai vizsgálata; egy alapító mutáció korának és eredetének meghatározása (23)

Gindele Réka, Roberto Colombo, Szabó Zsuzsanna, Speker Marianna,
Fiatal Szilvia, Bereczky Zsuzsanna

8.10–8.20

Patogén kiotripszinogén C (CTRC) mutációk klinikai jelentősége gyermekkori kezdetű pancreatitisben (adatelemzés az „APPLE” vizsgálatból) (25)

Bokor Barbara Anna, Sándor Máté, Németh Balázs Csaba,
Párniczky Andrea, Tóth Anna Zsófia, Mosztbacher Dóra, Lásztity Natália,
Demcsák Alexandra, Szentesi Andrea, Pienar Corina, Tokodi István,
Vass Ibolya, Kadenczki Orsolya, Czelecz Judit, Andorka Csilla,
Veres Gábor, Guthy Ildikó, Tomsits Erika, Gárdos László, Ila Veronika,
Vörös Krisztina, Horváth Emese, Hegyi Péter

8.20–8.30

Kardiovaszkuláris vonatkozású genotípus-fenotípus összefüggések vizsgálata Marfan-szindrómás betegek esetében (27)

Bors András, Stengl Roland, Ágg Bence Károly, Benke Kálmán,
Kövy Petra, Pólos Miklós, Daradics Noémi, Balogh István, Mátyás Gábor,
Szabolcs Zoltán, Andrikovics Hajnalka

8.30–8.40

Marfan szindróma: módszertan és epidemiológia (28)

Madar László, Koczkó Katalin, Szakszon Katalin, Pfiégler György,
Fekete György, Balogh István

8.40–9.00 *Szponzorált előadás, GeneTiCA Kft.*

Breakthrough technologies shaping future genetics

Anna Küllői

9.00–9.10

HNF1B heterozigóta deléció meghatározása QMPSF módszerrel és mikosatellita markerekkel (30)

Jávorszky Eszter, Antal Violetta, Tory Kálmán

9.10–9.20

Gyakran előforduló kóroki mutációk akut intermittáló porfiriában szenvedő magyar betegeknél (31)

Krähling Tünde, Bors András, Varga Livia, Kövy Petra, Meggyesi Nóra,
Pusztai Ágnes, Bor Márta, Andrikovics Hajnalka

9.20–9.30

Nemszindrómás hallásvesztés genetikai vizsgálata a magyar betegpopulációban (32)

Török Dóra, Farkas Katalin, Nagy Nikoletta, Nagy Attila, Széll Márta,
Kiss József Géza

9.30–9.40

Hypogonadotrop hypogonadizmus háttérében álló génpanel vizsgálata újgenerációs szekvenálás segítségével (33)

Butz Henriett, Likó István, Nyiró Gábor, Patócs Attila

9.40–9.50

A hereditaer haemorrhagiás teleangiectasia molekuláris genetikai vizsgálata Magyarországon; egy alapító mutáció azonosítása (35)

Gindele Réka, Major Tamás, Szabó Zsuzsanna, Bereczky Zsuzsanna

9.50–9.55 *Rövid előadás*

Glükokináz génmutációk patogenitásának vizsgálata (37)

Gerzsényi Tímea, Gaál Zsolt, Kántor Irén, Dzsudzsák Erika, Balogh István

9.55–10.00 *Rövid előadás*

Új akatalazémia mutációk azonosítása magyarországi betegcsoportokban (38)

Nagy Teréz, Pászti Erika, Káplár Miklós, Bhattoa Harjit Pal, Góth László

8.00–10.00 *Párhuzamos szekció*

JARC (Joint Action on Rare Cancers) roundtable.

Moderátor: Melegh Béla

Helyszín: Szemináriumi terem

10.00–10.20 *Kávészünet*

10.20–11.45

Neurogenetika

Elnök: Molnár Mária Judit, Hadzsiev Kinga

Helyszín: Nagyelőadó

10.20–10.35 *Nyitó előadás*

Quo vadis klinikai genetika - A genetika változó szerepe a betegellátásban (39)

Molnár Mária Judit

10.35–10.45

PSEN2 (preselinin 2) variánsok azonosítása különböző neurodegeneratív betegségekben (41)

Csabán Dóra, Bencsik Renáta, Grosz Zoltán, Zádori Dénes, Illés Anett, Gál Anikó, Klivényi Péter, Kovács Tibor, Molnár Mária Judit

10.45–10.55

A genetikai diagnosztika és tanácsadás kihívásai korai kezdetű Parkinson-kórban (43)

Illés Anett, Grosz Zoltán, Balicza Péter, Csabán Dóra, Gézsi András, Molnár Viktor, Gál Anikó, Klivényi Péter, Molnár Mária Judit

10.55–11.15 *Szponzorált előadás, Biomedica Hungária Kft.*

AmplideX(r) Technology: Portfolio Expansion to New High Complexity Targets Associated with Neurological Diseases

Efterpi Papouli, PhD, Field Product Manager, Asuragen

11.15–11.25

Az epilepsziás encephalopathia genotípusbeli és fenotípusbeli heterogenitásának bemutatása két esetünk kapcsán (45)

Pintér Adrienn Lilla, Till Ágnes, Melegh Béla, Hadzsiev Kinga

11.25–11.35

Magyar ALS betegekben azonosított angiogenin mutációk számítógépes és funkcionális jellemzése (47)

Tripolszki Kornélia, Danis Judit, Padhi Aditya, Bozó Renáta, Nagy F. Zsófia, Engelhardt I. József, Klivényi Péter, Gomes James, Nagy Dóra, Széll Márta

11.35–11.40 *Rövid előadás*

Új, destabilizáló misszensz mutáció a dystrophin génben (49)

Koczkó Katalin, Merő Gabriella, P. Szabó Gabriella, Madar László, Gombos Éva, Ajzner Éva, Mótyán János András, Hortobágyi Tibor, Balogh István

11.40–11.45 *Rövid előadás*

A galanin gén (GAL) szerepe az epilepsziában (50)

Árvai Kristóf, Kocsis-Deák Barbara, Klujber Valéria, Balla Bernadett, Tóbiás Bálint, Kósa János, Lakatos Péter

10.00–11.50 *Párhuzamos szekció*

GINOP megbeszélés.

Moderátor: Széll Márta

Helyszín: Szemináriumi terem

11.50–12.55

Funkcionális analízis

Elnök: Tory Kálmán, Nagy Bálint

Helyszín: Nagyelőadó

11.50–12.00

Fenotipikus variabilitás vizsgálata genetikailag azonos és trióból származó humán limfoblasztoid sejtvonalakon (51)

Ozgyin Lilla, Hevessy Zsuzsanna, Bálint Bálint László

12.00–12.10

DNM2 mutációk hatása a mitokondriális dinamikára (52)

Gál Anikó, Shamim Naghdi, David Weaver, Gézsi András,
Molnár Mária Judit, Hajnóczky György

12.10–12.20

A CARD14 génvariánsok vizsgálata pityriasis rubra pilarisban (54)

Göblös Anikó, Danis Judit, Farkas Katalin, Gál Brigitta, Nagy Nikoletta,
Bata-Csörgő Zsuzsanna, Széll Márta

12.20–12.30

**A TMEM260 biállélikus mutációi policisztás vesebetegséget,
cerebrális atrophíát és szívfejlődési rendellenességet okoznak (56)**

Keszthelyi Tália Magdolna, Varga Máté, Ralbovszki Dorottya,
Ablonczy László, Bole Christine, Corinne Antignac, Tory Kálmán

12.30–12.40

**Inkompletten penetráns mutációk azonosítása autoszomális
recesszív betegségekben (58)**

Mikó Ágnes, Kaposi Ambrus, Schnabel Karolina, Seidl Dániel,
Tory Kálmán

12.40–12.50

**A humán kationos tripszinogén (PRSS1) c.49C>A (p.P17T)
mutációjának szerepe krónikus pancreatitisben (60)**

Németh Balázs Csaba, Szücs Ákos, Hegyi Péter, Sahin-Tóth Miklós

12.50–13.00

**A c-MYC, KRT1, KRT10, KRT19, MMP9 és TP53 gének expressziójának
vizsgálata cholesteatomában (62)**

Penyige András, Póliszka Szilárd, Palkó Enikő

13.00–14.00 *Ebédszünet*

(Az ebéd fakultatív, a közelben számos étterem és menza található)

MHGT Közgyűlés (1. összehívás)

Helyszín: Nagyelődó

14.00–15.50

Klinikai genetika és citogenetika

Elnök: Ujfalusi Anikó, Horváth Emese

Helyszín: Nagyelődó

14.00–14.15 *Nyitóelőadás*

Amikor előbb a genotípust tudjuk (63)

Szakszon Katalin, Oláh Éva, Bessenyei Beáta, Ujfalusi Anikó,

Madar László, Orosz Orsolya, Balogh István

14.15–14.25

Az intersex genitáliákkal született gyermektől a gonad genesis folyamatában felfedezett új génekig (64)

Bertalan Rita

14.25–14.35

A korszerű genetikai tanácsadás sokrétű arca (65)

Horváth Emese

14.35–14.45

Klinikai exome vizsgálat vesebetegségben, csontdysplasiában, neuromuscularis betegségben és egyéb szindrómákban (esetek bemutatása) (67)

Kárteszi Judit, Tihanyi Mariann, Bereczki Csaba, Hartwig Mariann,

Maróti Zoltán, Kalmár Tibor

14.45–14.55

Egy jól ismert betegség új megközelítésben: metilációs vizsgálat fragilis X szindrómában (69)

Bessenyei Beáta, Nagy Orsolya, Kissova Dajana, Szakszon Katalin,

Nagy Dóra, Balogh István

14.55–15.05

Kompetitív és SNP alapú array-CGH platformok alkalmazhatósága és helye a rutin diagnosztikában (70)

Pikó Henriett, Karcagi Veronika, Haltrich Irén, Beke Artúr,

Fekete György, Kövesdi Andrea, Lakatos Péter, Kósa János

15.05–15.15

Az Xq28 régió kópiaszám változásainak klinikai jelentősége (72)

Pinti Éva, Lengyel Anna, Pikó Henriett, Karcagi Veronika, Kiss Eszter, Tóth Zsuzsa, Fekete György, Haltrich Irén

15.15–15.25

Kópiaszám eltérések vizsgálata veleszületett szívfejlődési rendellenességekben (73)

Nagy Orsolya, Szakszon Katalin, Biró Orsolya Brigitta, Nagy Bálint, Balogh István, Ujfalusi Anikó

15.25–15.35

A genetikai diagnózis útvessztői (75)

Haltrich Irén, David Dezső, Lígia Almeida, Carlos Araúj, Barbara Marques, Maristella Maggi, Giovanna Valentini, Tóth Zsuzsa, Kiss Eszter, Fekete György

15.35–15.45

Angelman szindrómás betegek klinikai, citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatai (76)

Szabó Tímea Margit, Ujfalusi Anikó, Bessenyei Beáta, Oláh Éva, P. Szabó Gabriella, Bálint Bálint László, Póliska Szilárd, Hadzsiev Kinga, Czákó Márta, Veres Gábor, Szakszon Katalin

15.45–15.50 *Rövid előadás*

9p triszómia (78)

Lengyel Anna, Pinti Éva, Tory Kálmán, Kosik Anna, Kiss Eszter, Tóth Zsuzsa, Fekete György, Haltrich Irén

15.50–16.05 *Kávészünet*

16.05–16.50

Nagy populációt érintő vizsgálatok

Elnök: Melegh Béla, Beke Artúr

Helyszín: Nagyelőadó

16.05–16.20 *Nyitóelőadás*

Genomikus populációgenetika (79)

Melegh Béla

16.20–16.30

A PITX2 és a NEURL1 génnel asszociált két egynukleotidos polimorfizmus genotípusának vizsgálata pitvarfibrillációs betegekben (80)

Szirák Krisztina, Soltész Beáta, Hajas Orsolya, Urbancsek Réka, Nagy-Baló Edina, Penyige András, Csanádi Zoltán, Nagy Bálint

16.30–16.40

TEK génvariációk vizsgálata allergiás konjunktivitiszben és asztmában (81)

Gál Zsófia, Sándorné Vángor Mónika, Szalai Csaba

16.40–16.45 *Rövid előadás*

Genetikai vizsgálatok psoriasisban (82)

Sawhney Irina, Penyige András, Janka Eszter Anna, Háló Zita, Fialat Szilvia, Ádány Róza, Remenyik Éva

16.45–16.50 *Rövid előadás*

A Kaukázus roma genetikai örökségre való hatásának feltárása teljesgenom adatokon alapuló vizsgálatokkal (83)

Bánfai Zsolt, Ádám Valerián, Büki Gergely, Czakó Márta, Melegh Béla

17.00–19.00

MHGT közgyűlés (2. összehívás)

Helyszín: Nagyelődó

20.00–

Bankett vacsora

Helyszín: Debreceni Egyetem, Főépület, Díszudvar.

Szeptember 8., szombat

Helyszín: Debreceni Egyetem, Klinikai Központ,
In Vitro Diagnosztikai Tömb, Debrecen, Nagyerdei krt. 98.

Regisztráció: 07.30-tól folyamatosan

8.00–9.45

Monogénes esetismertetések

Elnök: Oláh Éva, Szakszon Katalin

Helyszín: Nagyelőadó

8.00–8.10

Usher szindróma: Kétoldali idegi eredetű hallásvesztés, retinitis pigmentosa (84)

Düh Adrienn, Zima Judith, Ripszám Réka, Pintér Adrienn Lilla,
Till Ágnes, Hadzsiev Kinga, Melegh Béla

8.10–8.20

Két leánygyermek esetében előforduló Netherton szindróma klinikai és genetikai vizsgálata (85)

Farkas Katalin, Török Dóra, Dalmády Szandra, Horváth Emese,
Nagy Nikoletta, Csoma Zsanett, Széll Márta

8.20–8.40 *Szponzorált előadás, Pentagen*

Professionális tesztjeink molekuláris diagnosztikára dedikálva, NGS tesztek

Sipos Péter

8.40–8.50

NGS alapú genetikai vizsgálatok jelentősége hirtelen szívhalált okozó kardiomiopátiákban és malignus aritmiákban (86)

Kósa János, Uzonyi Gábor, Horváth Viktor, Tobiás Bálint,
Kocsis-Deák Barbara, Árvai Kristóf, Balla Bernadett, Kövesdi Andrea,
Takács István, Környei László, Lakatos Péter

8.50–9.00

Kongenitális klórvesztő hasmenésben szenvedő fiúgyermek genetikai vizsgálata (88)

Török Dóra, Farkas Katalin, Dávid Éva, Nagy Nikoletta, Horváth Emese, Kiss Zsuzsanna, Oroszlán György, Balogh Márta, Széll Márta

9.00–9.10

Két cleidocraniális dysplasiás családunk esete (89)

Ripszám Réka, Hadzsiev Kinga, Zima Judith, Till Ágnes, Fekete Anett, Melegh Béla

9.10–9.20

Egy extrém ritka betegség: korai öregedés szindróma neonatális típusa (90)

Zeke Helga Gyöngyi, Molnár Mária Judit

9.20–9.30

Genotípus-fenotípus variabilitás pontocerebelláris hypopláziában két esetünk kapcsán (91)

Zima Judith, Hadzsiev Kinga, Till Ágnes, Ripszám Réka, Melegh Béla

9.30–9.40

FOXP3 gén splice mutációja IPEX szindrómában (92)

Tóth Beáta, Tihanyi Mariann, Kárteszi Judit, Balogh István

9.40–9.45 *Rövid előadás*

Pfeiffer-szindrómát okozó új FGFR2 mutáció azonosítása új-generációs szekvenáláson alapuló génpanel vizsgálat alkalmazásával (93)

Kocsis-Deák Barbara, Árvai Kristóf, Klujber Valéria, Balla Bernadett, Tóbiás Bálint, Kósa János, Lakatos Péter

9.50–11.20

Prenatális genetika

Elnök: Török Olga, Nagy Sándor

Helyszín: Nagyelődó

9.50–10.05 *Nyitóelőadás*

NIPT státusz 2018 (94)

Török Olga

10.05–10.15

Transzlokáció következtében kialakult Wolf-Hirschhorn szindróma bemutatása (95)

Kékesi Anna, Tankó Lenke, Kurcsics Judit, Mátyás Szabolcs, Kovács Péter, Tímár László, Tory Vera, Altmann Anna, Karcagi Veronika

10.15–10.25

NIFTY® – a legtöbb elemszámmal validált non-invazív prenatalis teszt – első 6000 magyarországi esetének értékelése (97)

Bárányné Krisán Ágnes Olga, Bátorfi József, Hajdu Krisztina, Kékesi Anna, Kurcsics Judit, Reichert Anna, Régi Marianna, Vizsy Nóra

10.25–10.45 *Szponzorált előadás, Veracity, DeltaGene Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium*

Újgenerációs nem invazív prenatalis vizsgálati módszerek kromoszóma és génszintű eltérések kimutatására (99)

Széll Márta

10.45–10.55

Az anyai sejt kontamináció interferáló hatása invazív prenatalis molekuláris genetikai tesztelés során (100)

Koczok Katalin, Gombos Éva, Madar László, Török Olga, Balogh István

10.55–11.05

Az anyai microcimerismus (101)

Klujber Valéria, Tobiás Bálint, Szőke Sarolta, Balla Bernadett, Kövesdi Andrea, Árvai Kristóf, Kocsi-Deák Barbara, Lakatos Péter, Kósa János

11.05–11.15

A Panorama® az egyetlen, SNP szekvenáláson alapuló NIPT - magyarországi eredmények bemutatása (102)

Tobiás Bálint, Készné Fodor Lili, Szőke Sarolta, Molnár Gábor, Balla Bernadett, Klujber Valéria, Kövesdi Andrea, Árvai Kristóf, Kocsi-Deák Barbara, Lakatos Péter, Kósa János

11.15–11.20 *Rövid előadás*

Kettős transzlokációt hordozó gravida terhessége (103)

Buczkó Zsuzsanna, Ujfalusi Anikó, Zsupán Ildikó, Tóth Anikó,
Szabolcsiné Burai Ildikó, Orosz Gergő, Török Olga

11.20–11.40 *Kávészünet*

11.40–12.40

RNS patogenetika

Elnök: Széll Márta, Bálint Bálint László

Helyszín: Nagyelődó

11.40–11.55 *Nyitó előadás*

Hosszú nem-kódoló RNS-ek: szerepük a humán evolúcióban és betegségek pathogenezisében (104)

Széll Márta

11.55–12.05

A központi idegrendszeri érintettség kezelésének és monitorozásának új irányai gyermekkori akut limfoid leukémiában (105)

Egyed Bálint, C. Sági Judit, Kutszegi Nóra, Rzeipel Andrea, Kovács Gábor,
Erdélyi Dániel, Szalai Csaba, F. Semsei Ágnes

12.05–12.15

Cirkuláló mikroRNS-ek mint potenciális biomarkerek gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában (106)

Rzeipel Andrea, Kutszegi Nóra, Csányiné Sági Judit, Egyed Bálint,
Wappler Abigél, Sándorné Vángor Mónika, Erdélyi Dániel

12.15–12.25

miRNS-expresszió vizsgálata blastemás Wilms-tumorban (107)

Buglyó Gergely, Magyar Zsófia, Romicsné Görbe Éva, Bánusz Rita,
Csóka Monika, Micsik Tamás, Berki Zsanett, Varga Péter, Sági Zoltán,
Nagy Bálint

12.25–12.35

A miR200a, miR200b és miR200c biomarkerként való alkalmazásának lehetősége a petefészekrák diagnosztikájában (109)

Szilágyi-Bónizs Melinda, Márton Éva, Lukács János, Soltész Beáta, Janka Eszter, Penyige András, Póka Róbert, Nagy Bálint

12.35–12.40 *Rövid előadás*

A miR141 és miR429 petefészekrák diagnosztikájában való alkalmazhatóságának vizsgálata (110)

Márton Éva, Lukács János, Szabó Réka, Soltész Beáta, Janka Eszter, Penyige András, Póka Róbert, Nagy Bálint Bálint, Szilágyi-Bónizs Melinda

12.45–13.55

Tumor genetika

Elnök: Méhes Gábor, Andrikovics Hajnalka
Helyszín: Nagyelőadó

12.45–12.55

Az örökletes emlő- és petefészekrák háttérében álló BRCA1 és BRCA2 génmutációk eloszlása - hazai, EMQN minősített eredmények alapján (111)

Balla Bernadett, Árvai Kristóf, Kocsis-Deák Barbara, Tobiás Bálint, Klujber Valéria, Kövesdi Andrea, Kósa János, Lakatos Péter

12.55–13.15 *Szponzorált előadás, Kromat Kft.*

Szomatikus BRCA mutációk vizsgálata új generációs szekvenálással high grade serosus ovárium tumorok formalin fixált, paraffinba ágyazott mintáiból (113)

Csernák Erzsébet, Vereczkey Ildikó, Tóth Erika

13.15–13.25

Mitochondriális DNS kópiaszámának detektálása petefészekrákos betegek vérplazmájában (114)

Keserű Judit, Soltész Beáta, Lukács János, Póka Róbert, Nagy Bálint

13.25–13.35

A HLA-DRB1*07:01–HLA-DQA1*02:01–HLA-DQB1*02:02 haplotípus összefüggése az aszparagináz hiperszenzitivitással (115)

Kutszegi Nóra, Xiaoqing Yang, Gézsi András, Schermann Géza, Erdélyi Dániel, Semsei Ágnes, Gábor Krisztina Mita, Sági Judit, Kovács Gábor, Falus András, Hongyun Zhang, Szalai Csaba

13.35–13.45

NGS alapú diagnosztikai módszer a differenciált pajzsmirigy rákos elváltozások kimutatására (116)

Lakatos Péter, Tobiás Bálint, Kocsis-Deák Barbara, Árvai Kristóf, Balla Bernadett, Horányi János, Járay Balázs, Székely Eszter, Székely Tamás, Kövesdi Andrea, Takács István, Kósa János

13.45–13.55

Újgenerációs szekvenálás alkalmazása mitokondriális genom vizsgálatához hypophysis adenomákban (117)

Németh Kinga, Darvasi Ottó, Likó István, Szücs Nikolette, Czirják Sándor, Reiniger Lilla, Szabó Borbála, Kurucz Petra Anna, Krokker Lilla, Igaz Péter, Patócs Attila, Butz Henriett

13.55–14.00 *Rövid előadás*

CD24 mRNS expresszió meghatározása petefészekrákos szöveti mintákból (119)

Soltész Beáta, Lukács János, Márton Éva, Szilágyi-Bónizs Melinda, Penyige András, Póka Róbert, Nagy Bálint

14.00

A Konferencia zárása

Az antitrombin deficiencia molekuláris genetikai vizsgálata: egy alapító mutáció korának és eredetének meghatározása

Gindele Réka, Roberto Colombo, Szabó Zsuzsanna, Speker Marianna,
Fiatal Szilvia, Bereczky Zsuzsanna

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Laboratóriumi
Kutató Tanszék, Megelőző Orvostani Intézet, Debrecen,
Center for the Study of Rare Hereditary Diseases, Niguarda Ca' Granda
Metropolitan Hospital, Milano, Olaszország,
Institute of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Catholic University,
Policlinico Agostino Gemelli, Róma, Olaszország*

Az antitrombin (AT) a véralvadás legfontosabb inhibitora. Az öröklött AT-hiány I-es és II-es típusú lehet. Az öröklött AT-hiányos egyének fokozott trombotikus kockázattal rendelkeznek. Az AT génjének (*SERPINC1*) mutációs profilja heterogén, leggyakoribb mutációk az AT Cambridge II, az AT Budapest 3 (ATBp3) és az AT Basel. Az ATBp3 mutáció leggyakrabban a magyar AT-deficiens populációban fordul elő. Munkacsoportunk korábban bebizonyította, hogy ez a magas előfordulási gyakoriság alapító hatásnak tulajdonítható. Célunk volt a magyarországi AT deficiens egyének genetikai hátterének felderítése, az ATBp3 mutáció prevalenciájának meghatározása különböző betegcsoportokban; valamint célul tűztük ki az ATBp3 mutáció korának és eredetének meghatározását.

A *SERPINC1* gén analizésére 156 egymással nem rokon AT deficiens egyén és családtagjaik (n=246) esetében került sor. Az ATBp3 mutáció előfordulását különböző betegcsoportokban olvadáspont görbe analízissel határoztuk meg. Tíz rövid tandem ismétlődő szekvencia (STR) analízisét végeztük el fluoreszcens fragmentanalízissel. A mutáció korának meghatározását 3 módszer alkalmazásával hajtottuk végre.

Összesen 31 *SERPINC1* mutációt azonosítottunk a 156 AT deficiens proband egyénnél, melyből 11 új; a mutáció detektálás arány igen magas, 98%. Az ATBp3 mutáció előfordulási gyakorisága a magyarországi, igazoltan AT-deficiens egyénekben 65,4% (n=156); fiatal, MI-n átesett betegekben 2,3% (n=88); stroke-n átesett betegekben (n=119) pedig 0,8% volt. Az ATBp3 mutáció nem fordult elő az általános magyar populációban (n=1000), ezzel szemben az általános roma populációban (n=1185) a mutáció előfordulási gyakorisága 2,8%-nak adódott. A mutáns „T” allél egyetlen STR haplotípussal társult az ATBp3 mutációt hordozó roma betegeknél.

Az ATBp3 mutáció előfordulása igen ritka más populációkban, a magyarországi AT-deficiens betegek körében a leggyakoribb. Különösen érdekes, hogy az általános roma populációban az ATBp3 mutáció előfordulása igen gyakori. Az ATBp3 mutáció alapító jellegét a roma ATBp3 mutáció hordozókban is sikerült igazolnunk. Az ATBp3 mutáció becsült kora, a mutációhordozó családok földrajzi elhelyezkedése és a magyar népesség története összhangban van azzal a feltételezéssel, hogy a mutáció innen származik vagy a XVII. században került be Magyarországra.

**Patogén kimotripszinogén C (CTRC) mutációk
klinikai jelentősége gyermekkori kezdetű pancreatitisben
(adatelemzés az „APPLE” vizsgálatból)**

Bokor Barbara Anna, Sándor Máté, Németh Balázs Csaba, Párniczky Andrea,
Tóth Anna Zsófia, Mosztbacher Dóra, Lásztity Natália, Demcsák Alexandra,
Szentesi Andrea, Pienar Corina, Tokodi István, Vass Ibolya,
Kadenczki Orsolya, Czelecz Judit, Andorka Csilla, Veres Gábor,
Guthy Ildikó, Tomsits Erika, Gárdos László, Ila Veronika, Vörös Krisztina,
Horváth Emese, Hegyi Péter

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
I. sz. Belgyógyászati Klinika, Gyermekgyógyászati Klinika, Orvosi Genetikai
Intézet, Szeged, Heim Pál Gyermekkórház, Budapest, Semmelweis Egyetem,
I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika,
Budapest, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Transzlációs Medicina Intézet, Gyermekgyógyászati Klinika, Pécs, Pediatrics
Department, “Victor Babes” University of Medicine and Pharmacy,
Timisoara, Romania, Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktatókórház,
Gyermekgyógyászati Osztály, Székesfehérvár, Debreceni Egyetem, Általános
Orvostudományi Kar, Gyermekgyógyászati Klinika, Debrecen, Bethesda
Gyermekkórház, Budapest, Jóna András Egyetemi Oktatókórház, Szabolcs-
Szatmár-Bereg Megyei Kórházak és Egyetemi Oktatókórház, Nyíregyháza,
Zala Megyei Kórház, Gyermekgyógyászati Osztály, Zalaegerszeg,
Dr. Kenessey Albert Kórház, Balassagyarmat, Semmelweis Kórház,
Kiskunhalas, MTA-SZTE Lendület Gasztroenterológiai Multidiszciplináris
Kutatócsoport, Szeged*

Az utóbbi években a gyermekkori kezdetű hasnyálmirigy-gyulladás incidenciája egyre növekszik. A fiatalok esetében a genetikai hajlam jelentős etiológiai tényező. A hajlamosító gének (*PRSS1*, *SPINK1*, *CTRC*, *CPA1*, *CFTR*, és *CEL*) felfedezése óta a pancreatitis genetikai szűrése viszonylag széles körben elérhetővé vált. Gyermekkori pancreatitisben a *CTRC* gén mutációit (különösen a p.G60G variánst) jelentős számú esetben azonosították. Tisztázatlan, hogy a *CTRC* gén mutációi hogyan befolyásolják a betegség klinikai lefolyását gyermekkori pancreatitis esetében. Célunk az volt, hogy gyermekkori kezdetű hasnyálmirigy-gyulladásban vizsgáljuk a *CTRC* mutációk jelenlétét, és az azonosított patogén mutációk tekintetében genotípus-fenotípus összefüggéseket tanulmányozzunk.

Retrospektív vizsgálatunkat a Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport (www.pancreas.hu) által létrehozott biobank segítségével, valamint az Országos Pancreas Regiszter adatainak felhasználásával végeztük. A vizsgálatba bevont betegek véréből DNS-t izoláltunk, majd Sanger-szekvenálást alkalmaztunk.

A kizárólag patogén *CTRC* mutáció(ka)t hordozó betegek (n=32) klinikai adatait hasonlítottuk össze a semmilyen patogén mutációt nem hordozó betegek klinikai adataival (n=62). A pancreatitisben szenvedő gyermekek 38%-a hordozott *CTRC* mutációt. Köztük jelentősen gyakrabban fordult elő rekurrens akut (27.6% vs. 14.0%) vagy krónikus (17.2% vs. 8.8%) pancreatitis az egyetlen genetikai rizikótényezőt sem hordozó betegekhez képest. A *CTRC* mutációt hordozókban szignifikánsan többször alakult ki akut pancreatitis (4.4 vs. 1.5). A betegség kezdete (12.5 vs. 12.5 év) és a kórházban töltött napok száma (10.8 vs. 11.0 nap) tekintetében nem találtunk különbséget a két csoport között.

A *CTRC* mutációt hordozó gyermekekben jelentősen nagyobb eséllyel alakul ki rekurrens akut vagy krónikus pancreatitis, továbbá szignifikánsan több akut epizódon esnek át, mint azon betegek, akikben nem azonosítottunk genetikai hajlambefolyásolókat.

Kardiovaszkuláris vonatkozású genotípus-fenotípus összefüggések vizsgálata Marfan-szindrómás betegek esetében

Bors András, Stengl Roland, Ágg Bence Károly, Benke Kálmán, Kövy Petra, Pólos Miklós, Daradics Noémi, Balogh István, Mátyás Gábor, Szabolcs Zoltán, Andrikovics Hajnalka

Dél-pesti Centrumkórház – Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Molekuláris Genetikai Labor, Budapest, Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Budapest, Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen, Center for Cardiovascular Genetics and Gene Diagnostics, Schlieren-Zurich, Svájc

A Marfan-szindróma (MFS) egy szisztémás kötőszöveti betegség, prevalenciája 1:5000. A komplex, változó penetranciájú és expresszivitású tünetek közül legfontosabb, életet veszélyeztető elváltozás az aorta disszekciója. Kiemelt jelentőségű az aorta tágulatának felismerése, nyomon követése, és az esetleges profilaktikus műtét elvégzése. A betegség hátterében legtöbbször az *FBN1* gén mutációja áll, ami a fibrillin 1 fehérje csökkent mennyiségéhez, (haploinsufficienciával járó, HI) vagy kóros szerkezetéhez vezet (domináns negatív hatású, DN).

A *FBN1* mutációk okozta kardiovaszkuláris (CV) érintettség súlyosságát vizsgáltuk a genotípus ismeretében. A fenotípus vizsgálata a SE Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikáján történt, az érvényes Ghent nozológia alapján. Eddig összesen 35, klinikailag MFS beteg esetében történt molekuláris genetikai vizsgálat. 34 esetben a *FBN1* génre vonatkozóan NGS technikával, (Roche 454 GS Junior) Sanger szekvenálással kombinálva, illetve 1 esetben Whole Genome Sequencing technika alkalmazásával.

20 esetben (57%) azonosítottunk kóroki mutációt. Közülük 11 volt HI típusú, (6 nonsense, 1 frameshift, 3 splice, 1 több exont érintő deléción) és 9 DN hatású (5 esetben ciszteint érintő). A major CV tünetek (aorta dilatáció és/vagy disszekció) megjelenésében nem volt különbség a mutációval rendelkező és nem rendelkező csoportok között, ($p=0,13$) azonban a nem cisztein aminosavat érintő missense mutációs betegek csoportjában a major CV tünetek szignifikánsan kisebb valószínűséggel jelentkeztek ($p=0,0035$).

MFS betegek esetében az *FBN1* gén vizsgálatával azonosított kóroki mutációk ismerete elősegítheti az aortaérintettség súlyosságának előrejelzését, és a profilaktikus aortagyök rekonstrukciós műtétek tervezését.

Marfan szindróma: módszertan és epidemiológia

Madar László, Koczkó Katalin, Szakszon Katalin, Pfiégler György,
Fekete György, Balogh István

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi
Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Gyermekgyógyászati Intézet,
Belgyógyászati Intézet, Debrecen, Semmelweis Egyetem,
II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest*

A Marfan-szindróma egy autoszómális domináns módon öröklő betegség, mely a szervezet kötőszöveti állományát érinti. Prevalenciája 1:5000 körülire tehető. A betegség fenotípusos tünetei több szervet érinthetnek, főként a szemet, a vázrendszert és a cardiovascularis rendszert. Továbbá jelentkezhetnek még bőr és légzőszervi tünetek is. A legsúlyosabbak következményekkel a cardiovascularis eltérések járnak, melyek döntően befolyásolják a betegek életminőségét és élettartamát. A Marfan-szindróma komplex klinikai tüneteinek hátterében a genetikai heterogenitás állhat. Az esetek döntő részében az FBN1 génben bekövetkezett eltérés áll, azonban a TGF- β (transforming growth factor beta) jelátviteli útvonalban szerepet játszó TGF β R1 és TGF β R2 gének mutációit is leírták már Marfan szindrómában. A vizsgálatunk során célul tűztük ki a magyarországi Marfan-szindrómás betegek vizsgálatát, a mutációk feltérképezését, egy saját mutációs adatbázis létrehozását, valamint egy diagnosztikai protokoll kidolgozását.

A vizsgálataink során 125 Marfan-szindróma diagnózisával érkezett beteget vizsgáltunk. Az analízis során új generációs DNS szekvenálással határoztuk meg az FBN1 gén kódoló régióinak bázisrendjét, melyhez saját tervezésű primerpárokat illetve egy kereskedelmi forgalomban kapható DNS könyvtárkészítő kitet használtunk. A mintákat Illumina MiSeq illetve Roche 454 Junior készülékkel vizsgáltuk. Az adatok értékelésére és validálására saját algoritmust alkalmaztunk. Megvizsgáltuk az adatok minőségét és a kódoló régiók lefedettségét. A kimutatott patogén eltéréseket minden esetben Sanger DNS szekvenálással is megerősítettük.

A 125 vizsgált mintából 20 esetben sikerült kóroki eltérést kimutatni. Mutációk közül 15 Misszensz, 3 Splice-site, 1 Inzerció és 1 Delécio volt. Az eltérések közül 13 ismert és 7 új mutációt detektáltunk. Igyekeztünk megvizsgálni a kimutatott, irodalomban nem leírt eltérések patogenitását a rendelkezésünkre álló adatbázisok, illetve predikációs programok segítségével,

valamint azoknál a betegeknél, ahol elérhetőek voltak a beteg családtagjai kaszkád vizsgálatot végeztünk. A Marfan szindróma gyanújával érkező betegek 16 százalékában sikerült patogén mutációt kimutatni és felderíteni a betegség genetikai hátterét. Az általunk elért mutáció detektálási arány megfelel az irodalomban közölt adatoknak. A későbbiekben a vizsgálati mintaszám növekedésével átfogóbb képet kaphatunk a Magyarországon előforduló FBN1 mutációkról.

***HNFB* heterozigóta deléció meghatározása QMPST módszerrel és mikroszatellita markerekkel**

Jávorszky Eszter, Antal Violetta, Tory Kálmán

Semmelweis Egyetem, I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

A *HNFB* gén mutációi autoszomális dominánsan öröklődő cisztás vesehypoplasiát és diabétesz mellituszt (MODY5) okoznak. A betegséghez ritkán genitalia-eltérés és neurológiai érintettség társulhat. A gén intragénikus mutációinál gyakoribb a teljes gént érintő deléció, mely a 17q12 régió deléciójaként ismert, és továbbá 14 gént is érint. A deletált régiót övező repetitív szakaszok miatt a 17q12 deléció gyakorlatilag minden esetben ugyanazon 1.3 Mb nagyságú szakasz kiesését eredményezi.

A heterozigóta deléció kimutatását QMPST módszerrel végeztük. A *HNFB* gén kilenc exonjából nyolcon végeztünk szemikvantitatív pcr-t. Pozitivitás esetén megerősítő vizsgálatként a 17q12 régióban található mikroszatellita markerekkel mutattunk ki allélvesztést. Negatív esetben a *HNFB* gén exonjait és határoló introni szakaszait Sanger szekvenáltuk.

Az I. sz. Gyermekklinikán gondozott nyolcvan hyperechogén vagy hypoplasiás vesével rendelkező beteg között 13 családban (16 betegben) találtunk teljes deléciót, és 4 családban (6 betegben) *HNFB* pontmutációt. A deléciót kilenc családban (70%) találtuk *de novo* kialakulnak, a pontmutációkat az esetek felében. A mikroszatellita markerek minden esetben informatívak voltak, és megerősítették a deléció fennállását. A *de novo* deléciók hat esetben az apai allélon, három esetben az anyai allélon alakultak ki. Két család esetében tudtuk vizsgálni a kialakulás mechanizmusát. Az egyik esetben egyenlőtlen átkereszteződés, a másik esetben intrakromoszómális átrendeződés történt. A mikroszatellita markerek alapján a *HNFB* deléció minden esetben érintette a 17q12 régió klasszikusan deletált régióját is.

A 17q12 deléció és a *HNFB* pontmutációi az újszülöttkori hiperreflektív vese gyakori okai. Az okozott cisztás hypodysplasia és a MODY 5 rendszerint jó prognózisa miatt fontos a recesszív policisztás vesebetegségtől való elkülönítése, és a kóroki mutáció kimutatása.

Gyakran előforduló kóroki mutációk akut intermittáló porfíriában szenvedő magyar betegeknél

Krähling Tünde, Bors András, Varga Lívია, Kövy Petra, Meggyesi Nóra,
Pusztai Ágnes, Bor Márta, Andrikovics Hajnalka

*Dél-pesti Centrumkórház, Molekuláris Genetikai Laboratórium, Budapest,
Országos Vérellátó Szolgálat, Budapest,
Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Budapest*

Az akut intermittáló porfíria (AIP) egy autoszomális domináns módon öröklődő betegség, amit a hem bioszintézisben részt vevő hidroximetilbilán-szintáz (HMBS, vagy más néven porfobilinogén-deamináz) enzim csökkent aktivitása okoz. A különböző klinikai megnyilvánulások közül a súlyos hasi fájdalommal járó, életet veszélyeztető akut neurovisceralis rohamok a legjelentősebb tünetek. A klinikai panaszok hátterében a *HMBS* gén mutációi állnak. Nem egyértelmű klinikai kép esetén a mutációk kimutatása nemcsak megerősíti az AIP diagnózisát, de ismeretükben megelőzhetőek a tünetmentes hordozó rokonok akut rohamai is.

Jelen tanulmányban 39, egymással rokon kapcsolatban nem álló, AIP-ban szenvedő magyar családot vizsgáltunk Sanger szekvenálással.

36 esetben tudtunk kóroki mutációt azonosítani a vizsgált betegcsoportban. Missense mutációkat 20/39 (51%) esetben találtunk, továbbá 1/39 (3%) nonsense, 4/39 (10%) splice-site és 11/39 (28%) olvasási keret eltolódással járó mutációt azonosítottunk, míg három esetben (8%) a *HMBS* génben nem tudtunk eltérést kimutatni Sanger szekvenálással. A c.331G>A; (p.Gly111Arg) missense mutáció a családok 33%-ában fordult elő (13/39). Az érintett betegek génjének polimorf régióit megvizsgálva arra a következtetésre jutottunk, hogy a gyakori p.Gly111Arg mutáció nem számít alapító mutációnak. Hét család esetében korábban nem közölt mutációkat azonosítottunk. Ezek közül az egyik egy kis méretű inzerció (c.224insA, p.Ser75Lysfs*8), amely négy családnál volt jelen. Ez a mutáció eddig még nem szerepelt a nemzetközi mutációs adatbázisban, de a predikciós programok alapján kóroki mutációnak tekinthető.

A p.Gly111Arg mutáció az argentin betegek körében is gyakori volt (12/26 beteg, 46%). Ezek az adatok, valamint saját megfigyeléseink megerősítik azt az elképzelést, amely szerint az AIP hátterében a *HMBS* génben található mutációs forrópont régiók állhatnak.

Nemszindrómás hallásvesztés genetikai vizsgálata a magyar betegpopulációban

Török Dóra, Farkas Katalin, Nagy Nikoletta, Nagy Attila, Széll Márta,
Kiss József Géza

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika,
MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged*

A nemszindrómás hallásvesztés a leggyakoribb érzékszervi megbetegedés, amely minden ezredik újszülöttet érint. A kórkép genetikailag rendkívül heterogén, amely háttérben napjainkig több, mint 100 gén mutációját azonosították világszerte.

Genetikai vizsgálataink során célul tűztük ki a magyar nemszindrómás hallásvesztésben szenvedő betegpopuláció átfogó vizsgálatát. A vizsgálatba bevont páciensek (n=156) esetében az előzetes klinikai és audiológiai vizsgálatokat követően a gap junction protein béta 2, 3 és 6 (*GJB2*, *GJB3* és *GJB6*) gének mutáció analízisét végeztük el direkt szekvenálással.

A *GJB2*, *GJB3* és *GJB6* gének vizsgálata során a páciensek több, mint harmadában, 36%-ban (n=56) azonosítottunk kóroki mutációt. Az azonosított kóroki mutációk között legnagyobb arányban (n=52) a *GJB2* gén mutációi voltak jelen. 29 esetben homozigóta, 10 esetben compound heterozigóta formában azonosítottunk mutációt a *GJB2* génen, míg 13 esetben csak egy heterozigóta mutációt detektáltunk. A *GJB3* és *GJB6* gének esetében 2 esetben azonosítottunk heterozigóta misszensz variánst.

Eredményeink a nemzetközi irodalmi adatokkal korrelálnak, mivel az általunk vizsgált betegpopulációban is a *GJB2* gén eltérései fordultak elő legnagyobb arányban. Vizsgálataink átfogó eredményeként képet kapunk a magyarországi nemszindrómás hallásvesztésben szenvedő páciensek genetikai háttéréről, ill. a későbbiekben lehetőségünk nyílna genotípus-fenotípus összefüggések feltárására is.

Hypogonadotrop hypogonadizmus háttérében álló génpanel vizsgálata újgenerációs szekvenálás segítségével

Butz Henriett, Likó István, Nyirő Gábor, Patócs Attila

*Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet,
MTA-SE, „Lendület” Örökletes Endokrin Daganatok Kutatócsoport, Budapest,
MTA-SE, Molekuláris Medicina Kutatócsoport, Budapest*

A hypogonadotrop hypogonadizmus centrális fejlődési rendellenesség, mely a hypothalamus-hypophysis tengely működésének zavarához vezet. Legklasszikusabb megjelenése a Kallman szindróma, melyben a hypothalamicus GnRH neuronok vándorlási zavara következtében a szexuális érés, pubertás késik vagy teljesen elmarad, ezáltal centrális szexuális infantilizmus alakul ki. A szekunder nemi jellegek hiánya, infertilitás és következményes osteoporózis alakul ki. Emellé társul anosmia (szaglás teljes vagy részleges kiesése), mely szintén a neuron vándorlás zavarának következménye. A KAL1 gén mellett számos, több mint 40 különböző gén eltéréseit azonosítottak a hypogonadotrop hypogonadizmus háttérében.

Az irodalomban leírt hypogonadotrop hypogonadizmust okozó gének költséghatékony vizsgálata saját fejlesztésű hibridizáción alapuló génpanel új generációs szekvenálással.

A vizsgálatba 24 hypogonadizmusban szenvedő beteget vontunk be. Az irodalomkutatás és adatbázisok segítségével 46 gént választottunk ki, melyre hibridizációs próbákkal szekvenáló könyvtárat terveztünk (Nimblegen). A szekvenálást Illumina MiSeq készüléken végeztük. Az azonosított variánsokat Sanger szekvenálással validáltuk.

Az egyedi könyvtárkészítés során összesen 109706 bázispárnnyi régiót fedtünk le 446 próba segítségével, ami a célgénnek 99%-os lefedettségének felelt meg. A bioinformatikai analízis GATK Best Practices ajánlása alapján történt. 10-szeres allélonkénti lefedettségi kritériumot alkalmaztunk. Az összes mintára nézve a vizsgált DNS szakaszok átlagos nukleotidonkénti lefedettsége: 76 (minimum: 10; maximum: 168) volt. A variánsok klasszifikációja az ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) ajánlás alapján történt. Egy bizonyosan patogén (GNRHR: c.416G>A), 1 valószínűleg patogén (FGFR1: c.319delG) és 5 különböző génben 6 ismeretlen jelentőséggel rendelkező variánst azonosítottunk. A 24 betegből 11-nél volt bizonyos klinikailag a hypogonadotrop hypogonadizmus diagnózisa. E 11 betegből a vizsgált 46 génben 4 esetben (36%) sikerült kimutatni genetikai eltérést.

A hypogonadotrop hypogonadizmus genetikailag heterogén betegség, mely genetikai diagnózisának felállításához hasznos az NGS alapú panelszekvenálás alkalmazása.

Támogatás:

Dr. Patócs Attila, Dr. Butz Henriett: Nemzeti Bionika Program

Dr. Butz Henriett: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal – NKFIH (OTKA PD 116093), Semmelweis Tudományos Innovációs Alap (STIA-KF-17), Magyar Tudományos Akadémia: Bolyai János Kutatási Ösztöndíj

**A hereditaer haemorrhagiás teleangiectasia
molekuláris genetikai vizsgálata Magyarországon;
egy alapító mutáció azonosítása**

Gindele Réka, Major Tamás, Szabó Zsuzsanna,
Bereczky Zsuzsanna

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék, Debrecen,
Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Központi Kórház és Egyetemi Oktatókórház,
Fül-Orr-Gége és Fej-Nyak Sebészeti Osztály, Miskolc*

A hereditaer hemorrhagiás teleangiectasia (HHT; Osler-Rendu-Weber kór) egy multiszisztémás érfejlődési rendellenesség, melynek leggyakoribb tünetei a spontán visszatérő orrvérzések, a bőrön és nyálkahártyákon előforduló teleangiectasiák (TA), valamint a tüdőben, az agyban és a gastrointestinalis traktusban vérzéssel járó arteriovenózus malformációk (AVM). Az Osler-kór esetében 3 gén mutációinak szerepét tartják hangsúlyosnak, így az *ENG*, az *ACVRL1* és a *SMAD4* génekét. A HHT autoszomális domináns öröklésmentet mutat és a különböző populációkban eltérő a mutációs spektrum, forró pontokat e génekben nem azonosítottak. A klinikai diagnózis felállítása a 4 Curaçao kritérium alapján történik.

Célunk volt a HHT hátterében álló mutációk feltérképezése, alapító mutációk keresése és egy jól követhető diagnosztikai algoritmus elkészítése.

A HHT-gyanús orrvérző és TA-val rendelkező betegeket alapos általános és fül-orr-gégészeti fizikai kivizsgálásnak vetették alá, az AVM jelenlétét különböző képalkotó módszerek (CT, MR) segítségével határozták meg. Genetikai analízisre összesen 41 egymással nem rokon HHT gyanús egyén és családtagjaik (összesen n=85) esetében került sor, mely az *ENG*, az *ACVRL1* és a *SMAD4* gének fluoreszcens direkt szekvenálását jelentette.

A mutáció detektálási ráta 80,5%, a betegek 49%-a az *ENG* génben (11 ismert és 7 új), 31%-uk az *ACVRL1* génben (3 ismert és 5 új) hordozó eltérést, *SMAD4* mutációt nem tudtunk kimutatni. Az új *ACVRL1* c.625+1 G>C variáns alapító hatásának elemzése során 14 hordozó, illetve 50 kontroll egyén esetében került sor 12-es kromoszómán lévő 5 mikroszatellita marker (D12S1677, D12S85, D12S2196, D12S1712 és D12S270) és 3 SNP (rs2071219, rs706815 és rs706816) analízisére. Azonos haplotípust mutattunk ki az *ACVRL1* c.625+1 G>C hordozókban, míg különböző haplotípusokat figyeltünk meg a kontroll személyekben, mely megerősíti alapító hatás jelenlétét.

A HHT genetikai háttere heterogénnek mondható ebben a földrajzi régióban. A HHT hátterében álló alapító hatás azonosítása igen hasznos, mivel a betegség klinikai megjelenése sokkal kiszámíthatóbb az ismert genotípus-fenotípus összefüggés miatt. Tapasztalataink alapján diagnosztikus algoritmust dolgoztunk ki, melyet validáltunk.

Glükokináz génmutációk patogenitásának vizsgálata

Gerzsényi Tímea, Gaál Zsolt, Kántor Irén, Dzsudzsák Erika, Balogh István

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen, Jósa András Egyetemi Oktatókórház, Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Kórházak és Egyetemi Oktatókórház, IV. sz. Belgyógyászati Osztály, Gyermekosztály, Nyíregyháza

A monogénes diabetes egy autoszomális domináns öröklődésmentet mutató, 25 éves kor előtt megjelenő cukorbetegség. A megemelkedett vércukorszint az esetek többségében nem igényel inzulinkezelést. A betegség kritériuma, hogy a heterozigóta mutáció legalább két generációban megfigyelhető legyen, azonban ez a *de novo* mutációk esetében nem teljesül. 14 olyan gént ismerünk, amelyek bármelyikében felmerülő változás potenciálisan MODY-hoz vezethet. A mutációk patogenitását a rekombináns fehérje termelésével és annak vizsgálatával állapíthatjuk meg. Az experimentális munka előtt azonban érdemes *in silico* predikciós módszerekkel is karakterizálni a még patogenitás szempontjából ismeretlen mutációkat.

A Debreceni Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet Molekuláris Genetikai Diagnosztikai Részlege az országos centruma a MODY genetikai diagnosztikájának. Így, kutatásaink során célul tűztük ki az összes beérkezett, mutációra pozitív minta összevetését és a patogenitásuk megállapítását *in silico* módszerekkel.

19, patogenitását tekintve a szakirodalomban még nem bizonyított, GCK és HNF1A génekben felmerülő mutációk *in silico* predikciós elemzése Polyphen-2, Mutation Taster és Genetic Variant Interpretation Tool web-alapú alkalmazások segítségével.

A 19 mutáció közül egy esetében nincs elég adat a patogenitás *in silico* vizsgálatához, azonban a többi 18 valószínűsíthetően vagy biztosan patogenitást mutatott.

Ezek a vizsgálatok egy jó alapot biztosítottak számunkra a továbbiakban folytatott kísérletes munkához, hiszen így 18 mutáció esetében nyomatékosan fenntartjuk a patogenitás esélyét. Emellett fontos megjegyezni, hogy a MODY eltérő altípusai (a 14 gén alapján) eltérő gyakoriságot mutatnak. A 19 mutáció közül 18 a glükokináz kódoló génben található, ennek alapján elmondhatjuk, hogy Magyarországon a GCK-MODY (MODY 2) dominál.

Új akatalazémia mutációk azonosítása magyarországi betegcsoportokban

Nagy Teréz, Pászti Erika, Káplár Miklós,
Bhattoa Harjit Pal, Góth László

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Képző Intézet, Debrecen*

A szervezet H_2O_2 metabolizmusának fő szabályozója a kataláz enzim, amely a hidrogén-peroxid vízre és oxigénre történő bontását végzi. A kataláz fehérjét egyetlen gén a kataláz gén kódolja, amely a 11-es kromoszóma rövid karján a 13-as pozícióban található. A veleszületett vérkataláz aktivitás csökkenés homozigóta formáját akatalazémiának a heterozigóta formát hypokatalazémiának nevezzük. Akatalazémiás betegek vérmintájában 1-8%, hypokatalazémiásoknál 50% alatti enzim aktivitás detektálható.

617 mintából álló betegcsoportban (diabetes mellitus $n=380$, mikrociter anémia $n=58$, beta-thalassemia $n=43$, időskori halláskárosodás $n=136$, kontroll $n=295$) vizsgáltuk a csökkent kataláz aktivitás a mutációk és a betegségek kapcsolatát.

Izolált gDNS-t alkalmazva genetikai mutáció szűrő módszerekkel térképeztük fel az exonális szakaszokat, valamint az exon/intron határterületeket. Polimeráz láncreakciót (PCR), egyszálú konformációs polimorfizmus (PCR-SSCP), PCR-heteroduplex és nukleotid szekvencia analízist végeztünk.

7 betegnél négy új mutációt mutattunk ki. Négy 2-es típusú diabetes mellitus és három mikrociter anémiás betegnél. A 2. exonban jelenlévő C inszerció (c.106_107incC) mikrociter anémiás ($n=2$) és 2-es típusú diabeteses ($n=1$) betegek mintájában volt azonosítható. A 4. exonban a c.379C>T ($n=2$), c.390T>C ($n=1$), c.431A>T ($n=1$) missense mutációkat találtuk. Ezzel a magyarországi akatalazémia mutációk száma 11-ről 15-re nőtt. Szignifikánsan magasabb arányban ($p<0,05$) fordult elő mutáció mikrociter anémia, 2-es típusú és gesztációs diabeteses betegeknel.

A betegségek kialakulásában feltehetően szerepet játszik a vérkataláz enzim aktivitás csökkenése. Ennek egyértelmű igazolására további genetikai vizsgálatok, egyéb epigenetikai és regulációs faktorok vizsgálata szükséges.

Quo vadis klinikai genetika - A genetika változó szerepe a betegellátásban

Molnár Mária Judit

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

Napjaink egészségügyi technológiai fejlődésének talán legfontosabb pillérei a molekuláris biológiai technológiák és az informatika. Nem véletlen, hogy a genetikai tesztek piaci értékének növekedését a 2018-as 5.1 milliárd USD-ről 2023-ra több, mint 9 milliárd USD-re becsülik. Mi is áll az extrém mértékű növekedés hátterében? A XX. század derekán a klasszikus kromoszóma vizsgálatokat jelentették a genetikai tesztek és azok indikációja elsősorban a veleszületett fejlődési rendellenességek okának tisztázása, azok megelőzése volt. Akkoriban még csak egy- egy monogénes betegséget lehetett biokémiai genetikai tesztekkel azonosítani. Ezzel szemben ma, 60 évvel később, több mint 3000 ritka monogénes betegség genetikai tesztje érhető el a klinikus számára. Manapság a genetikai tesztek palettája prenatalis tesztekre, újszülöttkori szűrésekre, diagnosztikai tesztekre, karrier szűrésre valamint predictív & pre-symptomás tesztekre osztható fel. A predictív tesztek magukban foglalják a pharmacogenomikai tesztek és a célzott terápia szelekciójához szükséges tesztek is.

A prenatalis tesztek között megjelent a preimplantációs genetikai teszt valamint a nem invazív prenatalis teszt (NIPT) is. A prediktív tesztek közül egyre nagyobb tért hódít a közvetlenül a fogyasztók által megrendelt genetikai rizikóbecslés iránti igény. Nem csak az indikációs területek változtak meg, hanem a metodikák is. A hagyományos cytogenetikai módszerek mellett még ugyan ma is használatosak a Southern blot, a PCR alapú technológiák, a Sanger szekvenálás, de egyre inkább elterjedtek az array alapú módszerek, az MLPA és az újgenerációs szekvenáláson alapuló technológiák (panel vizsgálatok, teljes exom és teljes genom vizsgálatok). Nem csoda, hogy nincs könnyű dolga a klinikusnak, amikor ki kell választania, hogy milyen módszerrel szeretné betege valószínűleg genetikai eredetű betegségének hátterét tisztázni. A genetikának köszönhetően egyre több a mutáció specifikus terápia, és piacra került ez első génterápiás eljárás is. A klinikai genetikus ma már nem csak diagnosztizál és tanácsot ad, hanem a ritka betegségek kezelésben aktív szerepet játszik. Az előadás azon túl, hogy bemutatja a klinikai genetika egyre fontosabb szerepét jelentőségét a mindennapi orvosi gyakorlatban,

útmutatást igyekszik adni ahhoz, hogy hogyan is tájékozódjon a klinikus az optimális teszt és módszer választás során, hogy minél kisebb költségvonzattal és minél nagyobb biztonsággal tudjon a páciensének segíteni.

***PSEN2* (preselinin 2) variánsok azonosítása különböző neurodegeneratív betegségekben**

Csabán Dóra, Bencsik Renáta, Grosz Zoltán,
Zádori Dénes, Illés Anett,
Gál Anikó, Klivényi Péter, Kovács Tibor, Molnár Mária Judit

*Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete,
Budapest, Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Neurológiai Klinika, Szeged,
Semmelweis Egyetem, Neurológiai Klinika, Budapest*

A *PSEN2* gén által kódolt fehérje, a γ szekretáz diszfunkciója és a monogénes Alzheimer-kór (AD) kapcsolata jól ismert. A *PSEN2* gén a *PSEN1* és *APP* génekkel együtt fontos része az amyloid kaszkádnak, hiszen hibás fehérjetermékeik amyloid plakkok felhalmozódásán keresztül szerepet játszanak az AD kialakulásában. A striatalis neuronok területén Parkinson-kórban (PD) is megfigyeltek amyloid felhalmozódást, különösen, ha a Parkinson-kór Alzheimer-kórral társult. Kutatásunk célja, annak feltárása, hogy ha a neurodegeneratív betegségeket spektrum betegségnek definiáljuk, milyen gyakori egy adott AD-vel asszociált gén mutációinak más neurodegeneratív betegség fenotípusával való megjelenése.

Kutatásunk során elsőként 93 korai kezdetű AD beteg (nő: 61, átlagéletkor: 64; férfi: 32, átlagéletkor: 63,06) *PSEN2* génjét vizsgáltunk Sanger szekvenálással, valamint 13 PD beteg teljes exom szekvenálását (WES) is elkészítettük.

A *PSEN2* génben három lehetséges patogén mutációt találtunk. A *PSEN2* c.1163 C>T variánst (T388M) egy pozitív családi anamnézissel rendelkező betegnél azonosítottunk. A betegség a páciens 51 éves korában kezdődött jellemzően prefrontális tünetekkel. A mutációt a predikációs szoftverek lehetséges patogénnek minősítik, ezt a szegregációs vizsgálat is alátámasztja. Egy PD és AD klinikai tünetekkel társult kevert típusú kognitív hanyatlást mutató nőbeteg esetében a *PSEN2* c.389 C>T (S130L) lehetséges patogén variáns és az *APOE* 4/4 genotípus igazolódott. Szintén a *PSEN2* c.389 C>T variánst találtuk meg egy PD-Plus szindrómás betegnél, akinél további PD-re hajlamosító genetikai variánst is detektáltunk (*PINK1*, A340T). A *PSEN2* gén c.184C>T (R62C) eltérést teljes exom szekvenálás segítségével azonosítottunk egy kamaszkora óta familiáris esszenciális tremorban és parkinsonismusban szenvedő páciensnél.

Eredményeink alátámasztják, hogy az eddig tisztán AD asszociált génként ismert *PSEN2* variánsai más neurodegeneratív kórképek kialakulásához is vezethetnek. Azt hogy mely fenotípus alakul ki a vezető génhiba következtében valószínűleg nagy mértékben befolyásolja az egyéb génekben lévő genetikai rizikó faktorok jelenléte. A fentiek alapján a neurodegeneratív betegségek komplex genetikai háttere miatt a patogén mutációk azonosításában komoly előnyt jelenthetnek az újgenerációs szekvenálási módszerek.

A genetikai diagnosztika és tanácsadás kihívásai korai kezdetű Parkinson-kórban

Illés Anett, Grosz Zoltán, Balicza Péter, Csabán Dóra, Gézsi András,
Molnár Viktor, Gál Anikó, Klivényi Péter, Molnár Mária Judit

*Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete,
Budapest, Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Neurológiai Klinika, Szeged*

A korai kezdetű Parkinson-kór (PD) genetikai elemzése fontos része a klinikai diagnosztika folyamatának, de a tisztán monogénes formák kevésbé gyakori. A jól ismert, Parkinson-kórral társult gének, például *PARK2*, *PINK1* és *LRRK2* mutációinak és a gének kópiaszám eltéréseinek vizsgálata sok esetben nem vezet egyértelmű genetikai diagnózishoz. Ezt a képet tovább árnyalja a Parkinson-kórral asszociációt mutató rizikó faktorok nagy száma és ezek szerepe a betegség kialakulásában és a potenciális terápiában. Vizsgálatunk célja egy lehetséges genetikai diagnosztikai útvonal feltárása a korai kezdetű Parkinson-kórban szenvedő betegekben, különös tekintettel a családi előfordulásra.

A betegeket (n=117) az intézetünkben vizsgált, PD diagnózissal rendelkező csoportból választottuk. Elsődleges szempont volt a minél tisztább PD fenotípus és a korai kezdet (25 és 50 év között). Sanger szekvenálással vizsgáltuk a monogénes PD hátterében álló leggyakoribb géneket (*PARK2*, *LRRK2*, *PINK1*), valamint MLPA módszerrel elemeztük a kópiaszám eltéréseket (*SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *UCHL1*, *DJ-1*, *GCH1*, *LRRK2* és *ATP13A2*). Ezen kívül familiáris esetekben teljes exom szekvenálást végeztünk.

A *PARK2* génben négy esetben homozigóta exon-duplikációt találtunk. A *PARK2*, *PINK1* és *LRRK2* génekben öt lehetséges patogén szubsztitúciót találtunk. A teljes exom adatok elemzésével valószínűleg patogén mutációt azonosítottunk számos kevésbé gyakori PD asszociálta génben (*DNAJC13*, *EIF4G*, *DNAJC6*, *PLA2G6* és *DCTN1*). Az *LRRK2*, *PINK1* és *GBA* génekben további PD genetikai rizikófaktort detektáltunk. 7 esetben 2 vagy 3 patogén mutáció és rizikó faktor egyidejű jelenlétét azonosítottuk. Több esetben azonosítottunk autoszomális recesszív PD-t kialakító génekben egyértelműen patogén mutációkat.

Az új-generációs szekvenálás segítségével egyszerre vizsgálható az összes neurodegenerációban szerepet játszó gén mutációja és számos rizikó faktor. A szélesebb körben elérhetővé váló új-generációs szekvenálás jelentős szerepet

játszik nemcsak a PD komplex hátterének megismerésében, hanem a klinikailag megkülönböztethető jegyek azonosításában, amelyek bizonyos egyedi vagy együttható genetikai változásokhoz kapcsolódhatnak. A neurológusoknak fel kell készülniük a növekvő kihívásra, melyet az együttható genetikai eltérések és rizikó faktorok párhuzamos értelmezése jelent, és ki kell dolgozni egy olyan rendszert melyben ez egyértelműen átadható a genetikai tanácsadás során.

Az epilepsziás encephalopathia genotípusbeli és fenotípusbeli heterogenitásának bemutatása két esetünk kapcsán

Pintér Adrienn Lilla , Till Ágnes , Melegh Béla , Hadzsiev Kinga

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

Az epilepszia a gyermekkor egyik leggyakoribb krónikus neurológiai betegsége.

Az epilepszia ellátás nagyrészt a felnőtt-és gyermekneurológia keretein belül történik, de miután neurológiai, pszichiátriai, klinikai elektrofiziológiai, neuroradiológiai és neuropszichológiai ismereteket igényel, egyre inkább határterületi speciális ellátásként (epileptológia) szerveződik világszerte és hazánkban is.

Magyarországon a gyermekpopulációban 1,0 %-os, a felnőtt népességben inkább 0,5 %-os prevalenciával számolva 50-60 ezer epilepsziás beteg van.

Az epilepsziás rohamokat többféle szempont alapján lehet osztályozni. A legújabban javasolt terminológia a genetikai, strukturális/metabolikus és ismeretlen eredetű kategóriákat különbözteti meg.

Az epilepsziás encephalopathia a gyermekkori epilepsziák között egy nagy gyűjtőcsoport.

A főbb jellemzője a súlyos epilepszia, jellegzetes EEG kép és a következetes fejlődésbeli elmaradás és regresszió.

A csoport rendkívül heterogén, mind a genetikai hátterét tekintve, mind pedig a fenotípusbeli megjelenését. Az előadásom során egyrészt szeretném bemutatni a genetikai hátterét, tekintettel arra, hogy a genetikai szakrendelésen ebbe a csoportba tartozó epilepsziafajtákkal gyakrabban találkozhatunk, illetve kettő érdekes esetünk kapcsán pedig betekintést nyerhetünk a fenotípusbeli sokszínűségébe is.

Az egyik betegünk egy 5 éves fiúgyermek, akit súlyos terápia rezisztens epilepsziával gondozunk. Külföldi kollaboráció keretein belül WES vizsgálat történt, mely során egy heterozigóta, eddig ismeretlen pontmutációt detektáltak nála, a DNM1 génben. Az eltérést predikációs szoftverekkel vizsgálva kóroki mutációnak vélelmezték. A heterozigóta DNM1 gén mutációk a korai csecsemőkori epilepsziás encephalopathia 31. típusával hozhatók összefüggésbe.

A másik betegünk pedig egy 14 éves fiúgyermek, akinek a rendkívül enyhe megjelenésű epilepsziája kapcsán egy ritka epilepszia típust ismerhettünk

meg. Külföldi kollaboráció keretein belül szintén WES vizsgálat történt, mely során egy bizonytalan pathogenitású, aminosav cserével járó heterozigóta pontmutációt találtak az SLC12A5 génben. Predikációs szoftverekkel vizsgálva ez az eltérés az idiopathiás generalizált epilepszia 14-es típusát okozhatja.

Magyar ALS betegekben azonosított angiogenin mutációk számítógépes és funkcionális jellemzése

Tripolszki Kornélia, Danis Judit, Padhi Aditya, Bozó Renáta, Nagy F. Zsófia, Engelhardt I. József, Klivényi Péter, Gomes James, Nagy Dóra, Széll Márta

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai Intézet, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Neurológiai Klinika, Szeged, MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged, Kusuma School of Biological Sciences, Indian Institute of Technology Delhi, New Delhi, India

Az amiotrófiás laterálszklerózis (ALS) egy neurodegeneratív megbetegedés, mely az alsó- és felső motoneuronokat érinti. Az ALS-ben szenvedő betegek 5-10%-a családi halmozódást mutat, míg a többi eset sporadikus. Eddig több mint 30, az ALS kialakulásával kapcsolatba hozható gén került leírásra, melyek a Mendeli öröklődést mutató ALS formákat okozzák, további mintegy 100 génben található variáns pedig mint hajlamosító faktor ismert. Az angiogenin gén (*ANG*) eltérései az esetek 2%-ában azonosíthatóak, mutációit familiaris és sporadikus esetekben egyaránt azonosították. Jelen munka során célul tűztük ki az *ANG* gén vizsgálatát egy magyar ALS-ben szenvedő kohortban.

A vizsgálatba 134 egymással rokon kapcsolatban nem álló, sporadikus ALS-ben szenvedő beteg került bevonásra. Az *ANG* gén vizsgálata hagyományos kapilláris szekvenálással történt. Az azonosított új variáns számítógépes molekula modellezése az AMBER 11 programcsomag SANDER modul alkalmazásával történt. A nukleáris transzlokációs vizsgálatot humán köldökvéna endotél (*HUVEC*) sejtenyészet vad típusú, illetve mutáns angiogeninnel történő inkubálását követő immunfluoreszcens festéssel végeztük.

Az *ANG* gén vizsgálata során három heterozigóta mutációt azonosítottunk (p.Met-24Ile; p.Arg33Trp és p.Val103Ile) négy betegben. A p.Met-24Ile mutáció, egy az irodalomból ismert variáns, amely az *ANG* szignál peptid régiójában található, és a translációs iniciációs kodont érintve befolyásolja a fehérje translációját. A p.Val103Ile misszensz variáns előzetesen jól karakterizált patogén variáns, mely *in silico* vizsgálatok eredményei alapján a fehérje sejtmagi lokalizációját befolyásolja. Az általunk azonosított p.Arg33Trp variánst az ALS hátterében eddig nem került leírásra. A 31RRR33 arginineknek kritikus szerepe van az angiogenin nukleáris transzlokációjának irányításában. Számítógépes molekula modellezés eredményei alapján elmondható, hogy a p.Arg33Trp mutáció jelenlétében a fehérje részlegesen

veszít a ribonukleáz aktivitásából, valamint sérül a nukleáris transzlokációs aktivitása. Funkcionális vizsgálataink bizonyítják a mutáns angiogenin fehérje nukleáris transzlokációs aktivitásának elvesztését.

Az ALS genetikai hátterének feltérképezésére irányuló kutatások nagy jelentőséggel bírnak, mivel segítenek felderíteni az sejthalál mechanizmusát a betegségben. Jelen munka jelentőségeként elmondható, hogy új információkkal szolgál az amiotrófiás laterálszklerózis genetikai hátterének felderítésében.

Új, destabilizáló misszensz mutáció a dystrophin génben

Koczkó Katalin, Merő Gabriella, P. Szabó Gabriella, Madar László,
Gombos Éva, Ajzner Éva, Mótyán János András, Hortobágyi Tibor,
Balogh István

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina
Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Gyermekgyógyászati Intézet, Patológiai
Intézet, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen,
Jósa András Egyetemi Oktatókórház, Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Kórházak
és Egyetemi Oktatókórház, Központi Laboratórium, Nyíregyháza*

A *DMD* gén mutációi Duchenne illetve Becker izomdisztrófiához (Duchenne/Becker muscular dystrophy, DMD/BMD) vezetnek. DMD/BMD hátterében az esetek 20-35%-ban pontmutáció áll, azonban a misszensz mutációk előfordulása igen ritka.

Laboratóriumunkban egy 6 hónapos fiúgyermek dystrophinopathia irányú többszintű genetikai kivizsgálását végeztük el enyhe, generalizált izomgyengeség, hypotonia, megkésett motoros fejlődés és emelkedett kreatin kináz érték (1497 U/L) miatt.

Az elsővonalbeli tesztként elvégzett multiplex ligáció-dependens próba amplifikáció (MLPA) a 4-es exon delécióját mutatta, melyet más módszerrel megerősíteni nem tudtunk. A 4-es exon Sanger szekvenálása egy új, *de novo* pontmutáció (c.227A>T, p.Asn76Ile) jelenlétét igazolta a dystrophin fehérje N-terminális aktin-kötő doménjában (N-ABD). A fals pozitív MLPA eredményt a mutáns nukleotid elhelyezkedése okozta, mely egybeesett az egyik MLPA próba ligációs helyével. A *DMD* gén teljes kódoló régiójának szekvenálása egyéb, potenciálisan patogén eltérést nem igazolt. A mutáció patogenitását sejtette az *in silico* analízis, mely szerint a mutáció feltehetően nagymértékben destabilizálja az N-ABD domént. Az izom immunhisztokémiai vizsgálata BMD-t valószínűsített.

Munkánk során a dystrophin génben egy új, destabilizáló misszensz mutációt karakterizáltunk. Eredményeink az MLPA-val igazolt, egy exont érintő deléciók megerősítő vizsgálatának fontosságát is hangsúlyozzák.

A galanin gén (GAL) szerepe az epilepsziában

Árvai Kristóf, Kocsis-Deák Barbara, Klujber Valéria, Balla Bernadett,
Tóbiás Bálint, Kósa János, Lakatos Péter

*Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest,
PentaCore Laboratórium, Budapest*

Az epilepsziának igen szerteágazó, komplex etiológiája van. A genetikai faktorok közreműködésére néhány bizonyíték áll csak rendelkezésre, az epilepszia genetikai háttere nagyban ismeretlen. Esetbemutatásunk alanya egy 8 éves kislány, egészséges szülők gyermeke, aki epilepsziában és mentális retardációban szenved. A korábbi vizsgálatok során a Dravet szindróma kizárásra került.

Perifériális vérmintából genomiális DNS kivonást végeztünk. Az első analízis során egy 200, epilepsziával összefüggést mutató gént tartalmazó génpanel vizsgálatot végeztünk el, szekvencia-elfogásos technika felhasználásával (GeneSG). Ezt követően teljes exom szekvenálást végeztünk, multiplex PCR-alapú könyvtárkészítést követően (AmpliSeq). A keletkezett szekvenciákban talált variánsokat az ESP, ExAc, ClinVar és HGMD adatbázisok segítségével osztályoztuk.

A génpanel vizsgálat során azonosítottunk az AMT génben egy heterozigóta, bizonytalan hatású variánst (c.893C>T), mely felvetette, a fenotípushoz illeszkedve, a glicin enkefalopátia diagnózisának lehetőségét. A klinikai vizsgálatok azonban ezt nem tudták megerősíteni. Az exom-szekvenálás során a GAL génben azonosítottunk egy korai stop kodont okozó, heterozigóta mutációt (c.7C>T), mely gén mutációját temporális epilepsziában írták le (AD). A T allél előfordulása adatbázis információk alapján 0,00006. A családvizsgálatot végezve azonban azt az eredményt kaptuk, hogy a beteg édesapja szintén heterozigóta erre a mutációra.

A GAL génben talált heterozigóta stop kodon mutáció nem magyarázza a beteg tüneteit, annak ellenére, hogy az irodalomban a GAL gén káros mutációt dominánsan öröklődő epilepsziával hozták összefüggésbe.

Fenotipikus variabilitás vizsgálata genetikailag azonos és trióból származó humán limfoblasztoid sejtvonalakon

Ozgyin Lilla, Hevessy Zsuzsanna, Bálint Bálint László

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Genomi Medicina és
Bioinformatikai Szolgáltató Laboratórium,
Laboratóriumi Medicina Intézet, Debrecen*

A humán variabilitás egyik, de nem egyetlen komponense a genetikai variabilitás. Az 1000 Genom Projekt humán B-limfoblasztoid sejteken (LCL) vizsgálta a genomszekvencia variabilitását. Vizsgálati rendszerünkben genomikai és áramlási citometriás módszerekkel hasonlítottunk össze egy családhoz tartozó személyekből származó limfoblasztoid sejtvonalakat sejtfelszíni markerek, génextpressziós eltérések és genomi szabályozó elemek szintjén. Egy alternatív megközelítésben egy személyből származó, tehát feltételezhetően genetikailag azonos, limfoblasztoid sejtek variabilitását is megvizsgáltuk.

Eredményeink szerint a genetikailag azonos limfoblasztoid sejtek között is jelentős génextpressziós eltérések azonosíthatóak, melyek összevethetőek a trióból származó limfoblasztoid sejtvonalak közötti különbségekkel. A szabályozó szuperenhanszerek szintjén a genetikailag azonos LCL sejtek variabilitása markánsan kisebb mint a trióból izolált LCL sejtek szintjén. A megfigyelt génextpressziós különbségek olyan farmakológiai szempontból releváns gének esetében is kimutathatóak, melyek eltérő aktivitása gyógyszerválasz-különbségekhez vezethet. Kísérleteinkben az eltérő génextpressziós különbségek egy adott citotoxikus ágens esetében az IC50 jelentős eltéréséhez vezetett genetikailag azonos sejtekben.

Vizsgálataink alátámasztják, hogy a genetikai eltérések mellett olyan génextpressziós különbségek is kimutathatóak farmakogenomikai modellként használt sejtvonalakban, melyek nem genetikailag meghatározottak és ezen eltéréseknek is jelentős farmakológiai következményei lehetnek.

DNM2 mutációk hatása a mitokondriális dinamikára

Gál Anikó, Shamim Naghdi, David Weaver, Gézsi András,
Molnár Mária Judit, Hajnóczky György

*Thomas Jefferson Egyetem, MitoCare Center, Department of Pathology,
Anatomy and Cell Biology, Philadelphia, PA, USA, Semmelweis Egyetem,
Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest*

A Dynamin2 protein (DNM2) számos sejtbiológiai folyamatban részt vesz, mint pl. a clathrin mediálta endocitózisban és a DRP1 fehérjével együtt a mitokondriumok osztódásában [1,2]. DNM2 depléción elongált hiperfuzionált mitokondriális hálózatot eredményezve blokkolja a mitokondriális osztódást [2].

Munkánk során primer fibroblast sejteken a *DNM2* mutációk (R369W és R465W) mitokondriális dinamikára gyakorolt hatását vizsgáltuk.

Mindkét vizsgált betegnél centronuclearis myopathia, axonal neuropathia és ophthalmoplegia externa volt jelen. Az izombiopsziás vizsgálat mitokondriális funkciózavart igazolt, míg az izomszövetből izolált DNS mintán az mtDNS multiplex delécióját találtuk. Ezen túl a R369W mutációval bíró beteg esetében a klinikai képet súlyos cardiomyopathia is jellemezte [3]. A másik beteg esetében (R465W) az általános tünetekhez nagyothallás is társult, valamint az izombiopsziás mintájában glikogén akkumuláció és intramitokondriális paracristallin inklúzió igazolódott.

A mitokondriális fúziós aktivitást, a mitokondriális hálózat folytonosságát és az organelláris kolokalizációkat konfokális laser scanning mikroszkóppal, míg a génexpressziós mintázatot TaqMan gene expressziós array plate-ek segítségével vizsgáltuk.

A betegből származó fibroblastokban fragmentált és aggregált mitokondriumokat, a mitokondriális hálózat folytonosságának és fúziós aktivitásának csökkenését találtuk, amelyet a *DNM2* génbevitel hatására normalizálni tudtunk. Mitokondriumok interakciója a tubulinnal és az endoplazmatikus retikulummal a kontrollhoz képest változást nem mutatott. A mitokondriális dinamikában szerepet játszó génnek célzott génexpressziós vizsgálata során a *RAC1*, *CDC42* és *TOMM7* gének expresszió emelkedését találtuk.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a *DNM2* R369W és R465W mutációi a mitokondriális fúziós mechanizmus gátlásán és a *RAC1*, *CDC42*

és *TOMM7* gének regulációs zavarán keresztül rendellenes mitokondriális morfogenezist és kvaliti kontrollt eredményeznek.

1. Bitoun et al., Hum Mutat. 30 (2009) 1419-1427.
2. Lee et al., Nature 540 (2016), 139-143.
3. Gal et al., Clin Neuropathol. 34 (2015): 89-95.

A *CARD14* génvariánsok vizsgálata pityriasis rubra pilarisban

Göblös Anikó, Danis Judit, Farkas Katalin, Gál Brigitta, Nagy Nikoletta,
Bata-Csörgő Zsuzsanna, Széll Márta

*Szegedi Tudományegyetem, MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport,
Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai
Intézet Bőrgyógyászati és Allergológia Klinika, Szeged*

A pityriasis rubra pilaris (PRP) egy ritka, krónikus gyulladásos, papulosquamosus bőrbetegség. A betegségre jellemző a follicularis hyperkeratosis és a normál bőrszigeteket magába foglaló narancsvörös, hámló dermatitis. A PRP multifaktoriális eredetű, a familiáris forma hátterében a *CARD14* gén mutációi állnak, míg a sporadikus formában ugyanezen gén polimorfizmusai fordulnak elő. Irodalmi adatokból ismert, hogy a *CARD14* variánsok hozzájárulhatnak a betegség kialakulásához oly módon, hogy megnövelik az NFκB jelátviteli útvonal aktivitását.

Munkánk során elvégeztük a *CARD14* gén szűrését egy PRP-s betegen, akinek a családjában a pikkelysömör családi halmozódást mutat. Négy génvariánst azonosítottunk a *CARD14* génen: rs117918077, rs2066964, rs28674001, rs11652075. Az azonosított genetikai variánsok funkcionális szerepének analízise során *in vitro* és *in situ* vizsgálatokat végeztünk PRP-s és egészséges mintákon (bőrbioopszia, perifériás vérből izolált PBMC, primer hámsejtek).

Mintáinkon első lépésben két független módszerrel vizsgáltuk az NFκB aktivitását. Az NFκB p65 alegységének immunfluoreszcens (IF) festése során enyhe citoplazmás jelet tapasztaltunk az egészséges mintákban, ezzel szemben a PRP-s metszetekben a citoplazma mellett erős magi festődés figyelhető meg, ami NFκB aktivitásra utal. Az IF festést egészséges és PRP-s betegből izolált PBMC-n is elvégeztük, mely során intenzívebb alap- és LPS indukált p65 festődés figyelhető meg a PRP-ből származó PBMC-ben az egészséges mintákhoz viszonyítva. Az NFκB-luciferase riportert használva szignifikánsan emelkedett NFκB aktivitást mutatott a PRP-s keratinocitákban az egészséges hámsejtekhez képest. Az emelkedett NFκB aktivitás hatásának vizsgálata során megmértük az egészséges és PRP-s hámsejtek és PBMC-k citokin (IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-8 és TNF-α) kifejeződésének és szekréciójának mértékét. Eredményeink szerint a PRP-s mintákban mind az alap citokin kifejeződés és elválasztás, mind bizonyos citokinek esetében a gyulladásos stimulusra

adott válaszreakció szignifikánsan magasabb volt az egészséges mintákhoz viszonyítva.

Vizsgálataink rámutatnak a ritka és gyakori génvariánsok funkcionális analízisének fontosságára, amelyek segítségünkre lehetnek a betegség patogenezisének sejtszintű és molekuláris biológiai hátterének részletesebb megismerésében.

**A *TMEM260* biallélikus mutációi
policisztás vesebetegséget, cerebrális atrophiát és
szívfejlődésirendellenességet okoznak**

Keszthelyi Tália Magdolna, Varga Máté, Ralbovszki Dorottya,
Ablonczy László, Bole Christine, Corinne Antignac, Tory Kálmán

*MTA-SE Lendület Nephrogenetikai Laboratórium, Semmelweis egyetem, I. sz.
Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest, Eötvös Loránd Tudományegyetem,
Genetika Tanszék, Budapest, Gottsegen György Országos Kardiológiai Intézet,
Budapest, INSERM, UMR 1163, Imagine Institute, Paris, France*

Egy policisztás vesebetegség, cerebrális atrophia és truncus arteriosus miatt gondozott négy éves fiút vizsgáltunk a genetikai ambulancián 2015-ben. Ezen tünetek együttes előfordulását azelőtt nem írták le az orvosi irodalomban. Célul tűztük ki a kóroki gén feltérképezését és a kódolt fehérje leírását.

Teljes exom szekvenálást végeztünk a kóroki mutációk azonosítása végett. A gén-expressziós vizsgálatot perifériás vér mononukleáris sejteiben végeztük. A *TMEM260* fehérje lokalizációját immunfluoreszcens festés után konfokális mikroszkóppal detektáltuk tranziensen transzfektált IMCD3 sejtekben ciliogenesis indukciója után. Mutáns zebrahal törzseket CRISPR/Cas9 rendszerrel hoztunk létre.

Összetett heterozigóta mutációkat azonosítottunk a *TMEM260* génben: c.592_593delTT, p.Leu198Valfs44* és c.1854C>A (p.Tyr618*). A szülői minták Sanger szekvenálásával igazoltuk a transz helyzetüket. Mindkét mutáns allél a vaddal összemérhető mennyiségben expresszálódik a szülői mintákban, vagyis egyiket sem érinti a nonszensz-mediált RNS lebontás. A két *TMEM260* izoforma közül csak a hosszabbat érinti a p.Tyr618* mutáció, így a rövidebb intakt marad. A zebrahalakban létrehozott *tmem260* loss-of-function mutációk mendeli arányban öröklődtek, de a kifejlett biállélikus mutáns halakban nem láttunk lényegesen eltérő fenotípust. Érdekes módon, a többi hasonló vese betegségben szereplő fehérjével ellentétben, az N-terminálisan myc-taggal jelölt *TMEM260* fehérje citoplazmatikus lokalizációt mutatott, és az elsődleges csillóban nem volt detektálható. Az érintett fiú ma már 7 éves, veséi extrém nagyok (+9SD), policisztásak, megtartott vesefunkcióval; fejlődésében súlyosan visszamaradott, epilepsziás, izomhipotónia, strabismus, ptosis, cisztás máj és kétoldali bronchus stenosis miatt áll gondozás alatt. Fenotípusa egybevág a közelmúltban, két családban leírt négy gyermek esetével, akik *TMEM260* homozigóta mutációt hordoztak.

A *TMEM260* mutációi súlyos autoszomális recesszív kórképet okoznak, dominálónan központi idegrendszeri, vese- és szív-érintettséggel. A *TMEM260* az első cisztás vesebetegségben érintett fehérje, mely nem lokalizált az elsődleges csillóban. A rövid izoforma érintetlen kifejeződése mind a leírt korábbi esetekben, mind az általunk vizsgált családban arra utal, hogy ennek elvesztése intrauterin letalitást okoz.

Támogató: MTA-SE Lendület Pályázat (LP2015-11/2015), NKFIA/OTKA K109718, FK124230 és KH125566.

Inkompletten penetráns mutációk azonosítása autoszomális recesszív betegségekben

Mikó Ágnes, Kaposi Ambrus, Schnabel Karolina, Seidl Dániel,
Tory Kálmán

*MTA-SE Lendület Nephrogenetikai Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem I. sz.
Gyermekklinika, Budapest*

Az autoszomális recesszív (AR) betegségek döntően kompletten penetránsak. Korábban kimutattuk, hogy az *NPHS2* gén R229Q variánsa inkompletten penetráns, patogenitása a másik allélon társult mutációtól függ. Célunk az volt, hogy más inkompletten penetráns variánsokat azonosítsunk AR betegségekben.

Az AR betegségek kóroki génjei (OMIM, n=1981) közül öt kritérium alapján kiválasztottunk 17 gént (*ATP7B*, *ASL*, *CAPN3*, *CFTR*, *CTNS*, *DHCR7*, *GAA*, *GALNS*, *GALT*, *IDUA*, *MUT*, *NPHS1*, *NPHS2*, *PAH*, *PKHD1*, *PMM2*, *SLC26A4*), melyek mutációi döntően gyakori betegségekért felelősek. Kigyűjtöttük az orvosi irodalomból az ezen génekben HGMD mutációt hordozó betegek genotípus- és fenotípus-adatait, összesen 12.596 beteg 3307 variánsát.

Első lépésként kizártuk a tévesen patogénnek ítélt mutációt hordozó betegeket: kizártuk azon HGMD mutációkat, melyek gyakrabban fordultak elő az európai átlagpopulációban (gnomAD), mint az európai betegpopulációban. Ezt követően a patogénnek ítélt mutációk penetranciáját vizsgáltuk: penetranciájukat a teljes funkcióvesztést okozó mutációk kumulatív allélfrekvenciájához viszonyítva számoltuk az európai betegpopulációban (n=9 281) és a gnomAD európai átlagpopulációban (n=63 369) lévő relatív allélgyakoriságuk hányadosaként. Az inkompletten penetráns variánsok között kerestük az interallelikus interakcióktól függőket, annak meghatározásával, hogy társulnak-e a betegpopulációban bizonyos mutáció(k)hoz specifikusan.

A biallelikus *DHCR7* és *PMM2* gén funkcióvesztést okozó mutációi alulreprezentáltak voltak a betegpopulációban, azt tükrözve, hogy ezen két gén biallelikus trunkáns mutációi intrauterin letálisak.

A 2513 európai variáns közül, 29 (1.15%) variáns nem dúsult szignifikánsan a betegpopulációban, ezeket nem tartottuk patogénnek, és kizártuk. Összesen 78 patogén mutáció volt kellően gyakori ahhoz, hogy penetranciáját meg tudjuk ítélni. Ezen variánsok közül 22 (28%) variánst találtunk inkompletten penetránsnak, köztük a három ismerten inkompletten penetráns variánst (*NPHS2* R229Q, *CFTR* R117H and L997F).

A 22 variáns mindegyike misszensz vagy hasítási helyet érintő mutáció volt. Míg a társult fenotípus alapján 16/22 hypomorph, a teljesen penetráns variánsok között mindössze 19/56 hypomorph ($p=0.002$). Az inkomplett penetrancia hátterében egy, a már ismert mutációnál (*NPHS2*, R229Q) találtunk interallelikus interakcióra utaló specifikus mutáció-társulásokat.

Az AR betegségekért felelős gyakoribb mutációk a vártnál nagyobb arányban inkomplett penetránsak. Az inkomplett penetrancia és a hypomorph hatás egybehangzó eredménye az alkalmazott populáció-genetikai módszer megbízhatóságát tükrözi. Az inkomplett penetráns variánsok ismerete fontos a pathomechanizmus megértésében és a genetikai tanácsadásban.

A humán kationos tripszinogén (PRSS1) c.49C>A (p.P17T) mutációjának szerepe krónikus pancreatitisben

Németh Balázs Csaba, Szücs Ákos, Hegyi Péter, Sahin-Tóth Miklós

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. sz.
Belgyógyászati Klinika, Szeged, Semmelweis Egyetem,
I. sz. Sebészeti Klinika, Budapest, Pécsi Tudományegyetem,
Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet, Pécs,
Department of Molecular and Cell Biology,
Boston University Medical Campus, Boston, MA, USA*

A humán kationos tripszinogén gén (*PRSS1*) aktivációs peptidjében található mutációk korai tripszinogén aktiváció indukálásán keresztül krónikus pancreatitis kialakulásához vezetnek. Az N-terminus processzálas során a kimotripszin C (CTRC) a tripszinogén aktivációs peptidjét behasítja, melynek következtében az aktivációs peptid 3 aminosavval megrövidül és a tripszinogén kezdeti aktivációja felgyorsul. A *PRSS1* p.A16V mutációja az N-terminus processzálas gyorsaságát megnöveli, mely korai, hasnyálmirigyen belüli tripszinogén aktivációhoz vezet. A Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport (HPSG – www.pancreas.hu) idiopátiás krónikus pancreatitisben szenvedő betegek kutatási célú genetikai vizsgálatát végzi. Ebben a betegcsoportban a human kationos tripszinogén egy eddig ismeretlen c.49C>A (p.P17T) mutációját azonosítottuk egy krónikus pancreatitisben szenvedő fiatal beteg esetében. Célunk az új p.P17T variáns potenciális patogén szerepének és biokémiai tulajdonságainak vizsgálata volt. Az index beteg és családtagjainak kutatási célú genetikai vizsgálatát a HPSG végezte el. Az index beteg esetében a *PRSS1*, *CTRC*, *SPINK1* és *CPA1* gének összes exonját, míg az index beteg szüleiben a *PRSS1* gén 2-es exonját szekvenáltuk. A rekombináns módon kifejezett mutáns tripszinogén aktivációját és CTRC általi N-terminus processzálasát enzimatikus assay és SDS-PAGE segítségével vizsgáltuk. Eredmények: A *PRSS1* gén 2-es exonjában heterozigóta formában azonosítottuk az új c.49C>A (p.P17T) mutációt egy gyermekkori kezdetű krónikus pancreatitisben szenvedő betegben. Az index beteg a *SPINK1* gén heterozigóta p.N34S mutációját is hordozta. A vad típusú tripszinogénnel összehasonlítva a p.P17T mutáns felgyorsult N-terminális hasadást, valamint felgyorsult autoaktivációt mutatott aktív CTRC jelenlétében, azonban a p.P17T mutáció patogén biokémiai tulajdonságai kevésbé voltak kifejezettek a már ismert p.A16V mutációhoz képest.

Az újonnan felfedezett p.P17T tripszinogén aktivációs peptid mutáció a már ismert patogén p.A16V mutációhoz hasonló biokémiai tulajdonságokkal rendelkezik. Eredményeink megerősítették azt a korábbi felfedezést, mely szerint a tripszinogén aktivációs peptid CTRC által irányított felgyorsult N-terminus processzálása jelentős tényező a krónikus pancreatitis kialakulásában.

A c-MYC, KRT1, KRT10, KRT19, MMP9 és TP53 gének expressziójának vizsgálata cholesteatomában

Penyige András, Póliska Szilárd, Palkó Enikő

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Humángenetikai Tanszék,
Biokémia és Molekuláris Biológiai Intézet,
Genomikai és Bioinformatikai Központ, Debrecen*

A cholesteatoma a középfülben elhelyezkedő graduálisan növekvő, lokális léziók kialakulásához vezető destruktív, daganatszerűen viselkedő ectopiás epidermális cysta. Két típusa a ritka veleszületett és a szerzett cholesteatoma. Patomechanizmusa máig is csak részben ismert, genetikai tényezők, gyulladási folyamatok és fertőzések is hozzájárulnak kialakulásához.

A cholesteatoma genetikai hátterének pontosabb megismerése érdekében az I. típusú cytokeratinok közé tartozó KRT1, KRT10 és KRT19 gének, a protoonkogén c-MYC, a tumorszupresszor TP53 gén és a mátrix metalloproteináz, MMP9 gén expressziós mintázatát vizsgáltuk 26 szerzett cholesteatomában. A betegcsoportot életkor (15 gyermekkori és 11 felnőttkori) és primer eset vagy recidíva szerint 4 alcsoportra bontottuk és az egyes csoportokra jellemző génexpressziós mintázatokat egészséges egyének retroaurikuláris régiójából származó bőr mintáinak génexpressziós szintjeihez hasonlítottuk. A mRNS szintek méréséhez műtéti mintákból össz RNS-t izoláltunk és az egyedi mRNS szinteket RT-qPCR módszerrel kvantitáltuk. A normalizáláshoz a PPIA háztartási gént expressziós értékeit használtuk fel.

A c-MYC gén expressziója szignifikánsan magasabbnak bizonyult a cholesteatoma mintákban, mint a kontrollban, az egyes betegcsoportok között viszont nem volt szignifikáns különbség. A KRT1 és 10 gének azonos expressziót mutattak minden csoportban, a gyermekkori recidíva mintákban szignifikánsan magasabb mRNS szinteket mértünk, mint a felnőttkori recidíva esetekben. A KRT19 gén a KRT1/10 génekével ellentétes expressziós változásokat mutatott. Amint az a cholesteatoma destruktív viselkedéséből várható az MMP9 gén szignifikánsan magasabb expressziót mutatott a kontroll mintákhoz képest a recidíva esetekben. A TP53 gén szignifikáns különbségek nélkül minden csoportban alacsony expressziót mutatott.

A gyermekkori/felnőttkori, recidíva/primer mintákban látható eltérő cytokeratin expressziós mintázat arra utal, hogy különböző differenciálódási stádiumban lévő és eltérő osztódási potenciállal rendelkező sejtek találhatók ezekben a cholesteatoma esetekben. KRT19 tumorszupresszor potenciálja korlátozhatja a cholesteatoma ismételt kialakulását.

Amikor előbb a genotípust tudjuk

Szakszon Katalin, Oláh Éva, Bessenyei Beáta, Ujfalusi Anikó,
Madar László, Orosz Orsolya, Balogh István

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

Egyre több evidencia szól amellett, hogy minél hamarabb lép be az exome szekvenálás a diagnosztikába, annál rövidebb a diagnózisig eltelt idő és annál alacsonyabbak a vizsgálati költségek. Igaz ez a klasszikus mendeli kórképekre és a mitochondriális betegségekre egyaránt; igaz akkor, ha van a betegnek körvonalazott diagnózisa, de az adott állapot hátterében nem egy, hanem több gén oki szerepe ismert, és igaz akkor, ha nincs egyértelmű diagnosztikus gyanúnk – utóbbi esetben értelemszerűen nehezíti a mutációk keresését a tény, hogy nem tudjuk, hol keressük. A nemzetközi tapasztalat azonban az, hogy a „high throughput”, genom szintű módszerek igénybe vételével is kb. 50% a diagnosztikus sikerráta. A módszer nem alkalmas deléciók/duplikációk ill. tripletexpanszió kimutatására, előbbieket array komparatív hibridizációval (array CGH) tisztázhatók.

A szerzők olyan eseteket mutatnak be, ahol a diagnózist klinikai vagy teljes exome szekvenálás alkalmazásával sikerült felállítani hazai vagy nemzetközi együttműködésben, de előadásunkban olyan esetek is szerepelnek, ahol a fenotípus alapján végzett egyetlen gén célzott szekvenálásával jutottunk diagnózishoz ultra-ritka kórképben is. Bemutatjuk a teljes exome-mal nyert molekuláris diagnózistól visszafelé vezető utat a biokémiai igazolásig, és mutatunk példát olyan esetre is, ahol napjaink csúcsh diagnosztikai módszereivel sem sikerült diagnózist felállítani. Szó lesz a fentieknek az érintett családok életére gyakorolt impaktjáról is, hiszen minden diagnosztikus erőfeszítés egy-egy ilyen családot érint – az öröklésment és az ismétlődési kockázat ismerete, a szekunder prevenció lehetőségének biztosítása a cél.

Szakértői vélemények szerint, ahogyan egykor a G-sávozásos kariotipizálás, úgy napjainkban a genom szekvenálás indul hódító útjára, és végül valamennyi, most alkalmazott cyto- és molekulárgenetikai módszer helyét átveszi.

Az intersex genitáliákkal született gyermektől a gonad genesis folyamatában felfedezett új génekig

Bertalan Rita

*Semmelweis Egyetem, I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest,
Pasteur Institut, Paris, France*

Már az első vizsgáló orvost kihívás elé állítja az átmeneti külső nemi szervekkel született gyermek a nem meghatározás tekintetében. A kivizsgálás első lépése a kariotípus meghatározása. 46,XX kromoszóma állománnyal rendelkező beteg esetén a leggyakrabban előforduló 21-hydroxiláz enzim alulműködésének a kizárása után, nehézséget jelenthet a szteroid bioszintézisben résztvevő más enzimek ritkábban előforduló defektusainak, a gonad fejlődési zavaroknak ill egyéb anyai eredetű férfi nemi hormon túl produkcióval járó betegségeknek a differenciál diagnózisa. 46,XY kariotípusú betegnél a technikailag ma már teljesen megbízható hormon szint mérések ellenére sokszor csak a genetikai vizsgálatok tudnak segítséget nyújtani az androgen bioszintézisben résztvevő enzimek alulműködésének, az androgen ill luteinizáló hormone receptor érzéketlenségének ill a gonad dysgenesisnek az elkülönítésében. A klinikai kép alapján felállított gonad dysgenesis diagnózisát mind cytogenetikai mind molekuláris genetikai módszerek használata esetén is csak kb 40%-ban lehetséges igazolni. Előadásomban az intersex genitáliákkal született gyermek kivizsgálásának a bemutatása után a gonad genesisben történt újabb felfedezésekről fogok beszámolni. A mostanában felfedezett új gének (mint DHH, DMRT1, MAP3K1, CBX2, SOX3, NR2F2) mellett bemutatom a már korábban ismert SF1 (NR5A1) ill WT1 géneknek kutató csoportunk által felfedezett új szerepét a gonad genesisben.

A korszerű genetikai tanácsadás sokrétű arca

Horváth Emese

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Szeged*

A 2008 évi XXI-es törvény meghatározása alapján a genetikai tanácsadás olyan konzultációs eljárás, amely során erre jogszabály alapján jogosult személy tájékoztatást ad a klinikai genetikai vizsgálatok előnyeiről vagy kockázatairól, feltárja a humángenetikai vizsgálatok eredményeinek lehetséges következményeit, és segíti a betegség természetének megértését.

Az SZTE Genetikai Tanácsadó Ambulanciáján 1995-2017 közötti közel 47 000 genetikai tanácsadás tapasztalatának köszönhetően bemutatható az ellátás iránti fokozódó igény, valamint napjaink korszerű szemléletű ellátásának jellemzői.

Noha a genetikai tanácsadó feladata a különböző eredetű genetikai kórképek (sikertelen reprodukció, kromoszóma rendellenességek, monogénes, illetve poligénes betegségek) diagnosztikájában és megelőzésében azonos, más-más módszer eredményezhet sikeres információ átadást, vezethet a tanácsot kérő önálló döntéshozatalához. A különböző kóreredetű csoportokban eltérő a várható genotípus–fenotípus összefüggés gyakorlati ismerete. Különösen nehéz a betegség természetének bemutatása a ritka betegségeknél, az alacsony mozaikossági fokú kromoszóma rendellenességeknél, illetve a változó expresszivitással jellemezhető kórképeknél, valamint az újonnan azonosított, feltételezhetően patogén kóroki mutációk esetében. A preteszt tanácsadásnál a modern citogenetikai- és molekuláris genetikai laboratóriumi szűrő-és diagnosztikai módszerek érthető bemutatása szintén komoly kihívást jelent. Míg a kromoszóma rendellenességek klinikai ellátása már hosszú évek tapasztalatának köszönhetően könnyebben felvázolható, a ritka betegségek ellátása komoly szervezést, orvosi team munkát igényel. A poligénes betegségek hajlamosító faktorainak a bemutatása, a betegek ellátása, a családtagok várható kockázatának a meghatározása, valamint a betegség megelőzése a fokozott kockázatú családtagok esetében szintén multidiszciplináris feladat.

Tekintettel arra, hogy a genetika forradalmának köszönhetően alig akad olyan kórkép, amelynek már ne lenne széles irodalma az oki vagy hajlamosító genetikai eltérésekre, a genetikai tanácsadó orvosnak a klinikum csaknem minden területén alapszinten járatosnak kell lennie a vizsgálati eredmények

értékelésében, a megfelelő klinikai diagnózis megítéléséhez, az alkalmazandó genetikai vizsgálatok meghatározásához. A modern genetikai tanácsadás egyre inkább igényli az egyéb klinikai szakterületekkel, a genetikai laboratóriumok munkatársaival, bioinformatikusokkal a szoros együttműködést, a team munkát.

**Klinikai exome vizsgálat vesebetegségben, csontdysplasiában,
neuromuscularis betegségben és egyéb szindrómákban
(esetek bemutatása)**

Kárteszi Judit, Tihanyi Mariann, Bereczki Csaba, Hartwig Mariann,
Maróti Zoltán, Kalmár Tibor

*Zala megyei Szent Rafael Kórház, Genetikai Tanácsadás, Zalaegerszeg,
Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Gyermekgyógyászati Klinika, Genetikai Diagnosztikai Labor, Szeged*

Klinikai munkánk során a kihívást leginkább a fenotípus és genotípus heterogenitása jelenti, amely sok kórkép jellemzője. A klinikai diagnózist legtöbbször megpróbáljuk genetikai vizsgálattal alátámasztani, ha pedig tanácstalanok vagyunk a fenotípus alapján, magától a genetikai vizsgálatoktól várjuk a megoldást. Fontos hangsúlyozni, hogy nemcsak mi, klinikai genetikusok, hanem egyre egyértelműbben a társszakmákban dolgozó kollégák is, főleg a gyermekgyógyászok és neurológusok, szorgalmazzák a modern genetikai vizsgálati lehetőségek igénybevételét. A széleskörű genetikai vizsgálat ma már olyan betegségmegjelenés és -lefolyás esetén is szóba jön, amikor sokkal valószínűbbnek tűnik a környezeti ok, de nem sikerül konkrét diagnózist megállapítani. Ma már sokkal nehezebb leírni azt a mondatot a leletünkben, mint az újgenerációs szekvenálás előtt, hogy konkrét genetikai diagnózist nem tudtunk meghatározni. Klinikai exome vizsgálat, teljes exome szekvenálás vagy akár teljes genom szekvenálás kiegészítve microarray-el és teljes mitokondriális genom szekvenálással - ma már ez utóbbi összetett vizsgálati lehetőséget is igénybe lehet venni, ha a beteg érdeke úgy kívánja.

Bemutatjuk, hogy a klinikai exome vizsgálat alkalmas volt arra, hogy egy adott ritka betegség genetikai diagnózisát meghatározzuk: Alport szindróma, Osteogenesis imperfecta, Duchenne-féle izomdystrophia, Ehlers-Danlos és Rubinstein-Taybi szindróma. Ismertetjük a renalis tubularis acidosis differenciál diagnosztikáját is. A molekuláris genetikai vizsgálatot gondos fenotípus elemzés előzte meg, minden esetben volt iránydiagnózisunk, és mindig valamely monogénes betegségre gyanakodtunk. Minthogy genetikai betegségekben ritkán van oki terápia, kiemeljük, hogy a kapott genetikai diagnózisnak neuromuscularis kórképben szenvedő betegünkönél fontos szerepe volt a kezelés szempontból. Szindróma gyanú esetén a genetikai eredmény nem mindig egyezett meg a klinikai iránydiagnózissal, ezek a legtanulságosabb esetek.

Pontos genetikai tanácsadás a legtöbb esetben csak genetikai diagnózis birtokában adható. Ez volt mindig a legfontosabb érv amellett, hogy egy beteggel kapcsolatban az adott korban elérhető legmodernebb releváns genetikai vizsgálatok elvégzése alapján mondjunk véleményt a genetikai tanácsadás során. Ezek ma az újgenerációs szekvenálás, az arrayCGH és az MLPA, amelyek elérhetősége a mindennapi gyakorlatban nagyon fontos.

Egy jól ismert betegség új megközelítésben: metilációs vizsgálat fragilis X szindrómában

Bessenyei Beáta, Nagy Orsolya, Kissova Dajana, Szakszon Katalin,
Nagy Dóra, Balogh István

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék,
Gyermekgyógyászati Intézet, Debrecen, Szegedi Tudományegyetem,
Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai Intézet, Szeged*

A fragilis X szindróma az egyik legismertebb tripletexpansziós betegség, melynek kialakulásáért az FMR1 gén 5'UTR régiójában bekövetkező CGG tripletszám növekedés, hipermetiláció és ennek következtében kialakuló gén inaktiváció tehető felelőssé. Az elmúlt évtizedben jelentős metodikai váltás következett be a betegség diagnosztikájában, a Southern-blot módszert a legtöbb helyen felváltották a különböző, PCR alapú technikák. A fragment analízisen alapuló három primerrel végzett, kereskedelmi forgalomban is megvásárolható kitek pontos tripletszám meghatározást tesznek lehetővé, azonban a legtöbb esetben nem vizsgálják a gén metiláltságát. A metiláció 200 feletti tripletszám (fullmutáció) esetén egyértelműen várható, azonban egyes esetekben ez csak részlegesen jön létre mozaicizmus következtében. Metilációbeli mozaicizmus esetén a nem metilált fullmutáns allélról átíródik a fehérje, így a klinikai tünetek enyhébb formában jelentkezhetnek. Fontos lehet a metiláltság vizsgálata nagy tripletszámú (180-200 CGG) premutáns allélok esetén is, mivel ezekben az esetekben, a várttal ellentétben, hipermetiláció jöhet létre.

A metiláció-specifikus multiplex ligáció függő próba amplifikáció (MLPA) módszer hasznos kiegészítője lehet a fragmentanalízisen alapuló PCR technikáknak. Az FMR1/AFF2 MLPA kit alkalmazásával lehetőség nyílik az FMR1 és a fragilis X szindrómához hasonló FRAXE betegség kialakulásában szerepet játszó AFF2 gén metiláltsági fokának meghatározására és a ritkán bekövetkező, de kóros szereppel bíró intragénikus deléciók kimutatására. Előadásunkban a kittel szerzett első tapasztalatainkat mutatjuk be.

Kompetitív és SNP alapú array-CGH platformok alkalmazhatósága és helye a rutin diagnosztikában

Pikó Henriett, Karcagi Veronika, Haltrich Irén, Beke Artúr, Fekete György, Kövesdi Andrea, Lakatos Péter és Kósa János

Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest, Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest, PentaCore Laboratórium, Budapest

Az emberi genomot nagyfokú változatosság jellemzi, amely az előforduló ismétlődő elemek meglétének is köszönhető. Az ismétlődő elemek egyik specifikus fajtája a kópia szám variációk (CNV), amelyek 10-5000 Kb méretű különböző számban ismétlődő szekvenciák. Az új típusú ún. molekuláris cytogenetikai módszerek (pl. microarray-CGH) a DNS nagy felbontású vizsgálatára, kisméretű DNS hibák, kópia szám variációk (CNV), kiegyensúlyozatlan transzlokációk kimutatására alkalmasak. A jelenleg alkalmazott hagyományos karyotipizálási módszerek - a G-sávozást is beleértve - a kromoszómák számbeli és durva szerkezeti rendellenességeinek kimutatására alkalmasak, az 5 Mb alatti DNS eltérések nem kerülnek felismerésre. A klasszikus és az új molekuláris citogenetikai módszereket elsősorban a fejlődési elmaradás és az intellektuális problémákkal járó kórképek, valamint a veleszületett rendellenességek diagnosztizálására alkalmazzák postnatalisan. A prenatális diagnosztikában a kromoszómák számbeli ill. nagyobb szerkezeti eltéréseivel járó rendellenességek detektálására, valamint ismert szindrómák vizsgálatára alkalmazzák a fent említett módszereket.

Az array-CGH technikával lehetőség nyílt a kiegyensúlyozatlan genomiális számbeli eltérés detektálására, mint pl. deléciók, duplikációk és aneuploidia. Célkitűzésünk volt egy olyan vizsgálati módszer bevezetése, amellyel gyors, pontos és megbízható eredmény adható.

Kompetitív CGH (Agilent Cytogenetic Platform) és SNP próba alapú CGH (Affymetrix Cytoscan Platform) analíziseket alkalmaztunk a molekuláris citogenetikai vizsgálatokhoz.

A módszer előnyeire alapozva végeztünk el eddig összesen 37 esetben citogenetikai array CGH analízist, amelyből 10 esetben igazoltunk egy adott kópiaszám változással járó szindróma meglétét. A többi 27 esetben több CNV-t is detektáltunk, amelyek bizonyos esetekben együttesen alakították ki

a pathogén fenotípust, míg más esetekben további analízisek szükségesek a kapott CNV-k és az adott klinikai körkép közötti összefüggések feltárásához. A array CGH eredmények validálása FISH technikával, valamint MLPA, RT-PCR módszerekkel történt.

Az elvégzett CGX array tapasztalati alapján úgy véljük, hogy az array-CGH technika ígéretes technikai megoldás lehet a látható és szubmikroszkópikus kromoszóma eltérések detektálásában, valamint megbízhatóan alkalmazható a rutin szerű molekuláris citogenetikai vizsgálatokban.

Az Xq28 régió kópiaszám változásainak klinikai jelentősége

Pinti Éva, Lengyel Anna, Pikó Henriett, Karcagi Veronika, Kiss Eszter,
Tóth Zsuzsa, Fekete György, Haltrich Irén

*Semmelweis Egyetem, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest,
Országos Környezetegészségügyi Intézet, Molekuláris Genetikai és
Diagnosztikai Osztály, Budapest*

A Semmelweis Egyetem II. sz. Gyermekgyógyászati Klinikáján az utóbbi 5 évben ismeretlen eredetű értelmi elmaradással rendelkező, array komparatív genomialis hibridizációval vizsgált betegekből nyolcnál azonosítottunk Xq28-at is érintő kópiaszám változást.

Az Xq28 kromoszómarégió 8,17 Mb nagyságú, géngazdag terület. Az eddig azonosított 112 génből 35 mutációja (duplikációja vagy deléciója) bizonyítottan patogén és többféle kórképpel hozható összefüggésbe [DECIPHER].

Az értelmi elmaradással járó kromoszómaaberrációk között – különösen a férfiak esetében - leggyakoribbak az Xq28 régiót érintő duplikációk, melyek incidenciája 1% körüli [Yamamoto és mtsai. 2014.]. Lugtenberg és munkatársai az itt található, értelmi elmaradást okozó géneket vizsgálva, a genotípus-fenotípus összefüggéseket elemezve az Xq28 duplikációs eseteket tünettan és súlyosság szerint osztályozták, melyben központi szerepet kapott a MECP2 és a vele szomszédos génrégiók (L1CAM, IRAK1, GDI1, IKBG, RAB39B, CLIC2) [Lugtenberg és mtsai. 2009].

Az Xq28 delécióinak számottevő hányada a MECP2 gént érintő, női predomanciát (XR öröklődés) mutató, idegrendszeri fejlődési zavarral járó Rett-szindrómát eredményezi. A mutáció-negatív (FISH és Sanger-szekvenálással eltérést nem mutató) Rett-szindrómás és Rett-szindróma-szerű tünetegyüttest mutató betegek mintegy 25%-ában mutatható ki megfelelő felbontású array vizsgálattal valamely patogén mikrodeléció. Utóbbi általában enyhébb, maszkírozott tüneteket eredményez [Iourov és mtsai. 2013].

Előadásunkban az Xq28 régió kópiaszám változásával diagnosztizált betegeink vizsgálati eredményeit és azok klinikai következményeit foglaljuk össze.

Kópiaszám eltérések vizsgálata veleszületett szívfejlődési rendellenességekben

Nagy Orsolya, Szakszon Katalin, Biró Orsolya Brigitta, Nagy Bálint,
Balogh István, Ujfalusi Anikó

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi
Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Gyermekgyógyászati Intézet,
Humán genetikai Tanszék, Debrecen, Semmelweis Egyetem,
I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest*

A veleszületett szívfejlődési rendellenességek (congenital heart disease - CHD) a leggyakoribb fejlődési anomáliák, melyek genetikai háttere heterogén: kromoszómális aneuploidia, Mendeli öröklődésű mutáció, epigenetikai változás és kópiaszám eltérés (copy number variants - CNV) egyaránt okozhatja. A genetikai háttér az esetek kb. 50%-ában még ma sem ismert. Munkánk célja CNV-k (deléciók, duplikációk) kimutatása szindrómás és izolált CHD-s betegek esetében array komparatív genomi hibridizáció (array CGH) és multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) vizsgáló módszerek alkalmazásával.

Vizsgálataink során 26 CHD-ben szenvedő beteg genomi DNS mintáján végeztük el az array CGH módszert CytoScan 750K (Affymetrix) alkalmazásával. Az eredmények kiértékeléséhez a Chromosome Analysis Suite (ChAS) v2.0 szoftvert használtuk. Súlyos, komplex szívfejlődési rendellenességgel rendelkező abortumok kamrai szövetmintájából (n=18) és hat beteg perifériás véréből izolált genomi DNS mintán SALSA MLPA P250 DiGeorge Probemix-et alkalmaztuk, amely a DiGeorge szindróma és egyéb, hasonló fenotípussal rendelkező, vitiummal járó kórkép létrehozásáért felelős gének delécióit, duplikációit vizsgálja. Az adatok analíziséhez a Coffalyser.Net szoftvert alkalmaztuk.

Az array CGH módszerrel öt beteg mintájában patogén deléciókat és duplikációkat azonosítottunk. Egy esetben az 5p15.33p13.2 régió deléciója Cri Du Chat szindrómát eredményezett. Egy beteg mintájában kiegyensúlyozatlan transzlokáció okozta deléció (4q34.3q35.2x1) és duplikáció (6q25.1q27x3) került azonosításra. Egy betegnél a 12q24.11q24.12 régió deléciója igazolódott. Egy-egy további esetben a 8p23.1 mikroduplikációs és mikrodéléciós szindrómát azonosítottunk. Huszonegy esetben nem volt kimutatható kópiaszám eltérés. MLPA módszerrel a komplex vitiummal rendelkező abortumoknál tizenhét esetben nem mutattunk ki genetikai

eltérést, míg egy mintában az RTDR1 génben egy exonos, míg a SMARCB1 génben két exonos duplikáció igazolódott. Az eltérések más módszerrel történő megerősítése folyamatban van. A postnatalis mintáknál egy esetben a 8p23.1-es régió duplikációját, egy betegnél a 22q11.2-es régió delécióját azonosítottuk.

Eredményeink alapján az alkalmazott módszerek hatékonyak olyan kópiaszám eltérések kimutatására, amelyek patogenetikai jelentőségűek veleszületett szívfejlődési rendellenességekben. A CHD-t okozó genetikai eltérések azonosításával genotípus-fenotípus összefüggések adhatók meg.

A genetikai diagnózis útvesztői

Haltrich Irén, David Dezső, Lígia Almeida, Carlos Araújo,
Barbara Marques, Maristella Maggi, Giovanna Valentini, Tóth Zsuzsa,
Kiss Eszter, Fekete György

*Semmelweis Egyetem, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest,
National Health Institute Dr Ricardo Jorge, Department of Human Genetics,
Lisbon, Portugal, „L. Spallanzani” Università degli Studi di Pavia,
Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Pavia, Italy*

A kiegyensúlyozott kromoszóma transzlokáció hordozás a pontos genetikai diagnózis, a megfelelő genetikai tanácsadás szempontjából egyaránt kihívás mind a genetikus, mind a klinikus számára. Előadásunkban egy három generációs családban előforduló, súlyos fenotípussal társuló (hemolitikus anémia, neuro-myopathia) transzlokáció [t(3;14)(q26.33;q12)] elemzését ismertetjük. Bemutatjuk a transzlokációban érintett, valamint a betegséget kiváltó egyéb génmutációk klinikai következményeit.

Angelman szindrómás betegek klinikai, citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatai

Szabó Tímea Margit, Ujfalusi Anikó, Bessenyei Beáta, Oláh Éva,
P. Szabó Gabriella, Bálint Bálint László, Póliska Szilárd, Hadzsiev Kinga,
Czakó Márta, Veres Gábor, Szakszon Katalin

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Gyermekgyógyászati
Klinika, Laboratóriumi Medicina Intézet,
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen, Pécsi Tudományegyetem,
Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai Intézet, Pécs*

Az Angelman szindróma (AS) a neurokognitív fejlődés zavarával járó rendellenesség. Hátterében a 15-ös kromoszómán található, anyai ágon expresszálódó *UBE3A* gén kóros expressziója áll. A háttérben álló molekuláris genetikai mechanizmusok a következők: 1) 15q11.2-q13 kromoszóma régió anyai alléljának mikrodeléciója 2) 15-ös kromoszóma apai uniparentalis diszómiaja, 3) imprinting mintázat megváltozása és 4) *UBE3A* gén mutációja. A mikrodeléciós eseteket a töréspontok (breakpoint, BP) alapján 2 fő csoportra osztjuk. Az I-es csoportba tartozó eseteknél a BP1-BP2, a 2-es csoportba tartozó eseteknél a BP2-BP3 közötti kromoszómaszakasz deléciója történik. Külön entitásként ismert a BP1-BP2 szakasz deléciójával járó Burnside-Butler szindróma, tünetei az Angelman szindróma tüneteivel jelentős átfedést mutatnak.

A súlyos intellektuális deficit+/-epilepszia hátterében álló genetikai mechanizmusok kiderítése, a töréspontok, érintett gének pontos megadása, genotípus-fenotípus összefüggések meghatározása.

11 gyermeket vizsgáltunk az Angelman szindróma tünete miatt. A molekuláris genetikai vizsgálatok során Fluoreszcens In Situ Hibridizációt (FISH), Metiláció-Specifikus Multiplex Ligáció függő Próba Amplifikációt (MS-MLPA), array Komparatív Genomikus Hibridizációt (array CGH), DNS mikroszatellita analízist és az *UBE3A* gén mutációanalízisét végeztük.

Hét betegnél igazolódott a 15q11-13 kromoszómaszakasz deléciója. Három esetben a BP1-BP3, négy esetben a BP2-BP3 kromoszómaszakasz deléciója történt. Két gyermeknél UPD, két gyermeknél az *UBE3A* gén mutációja állt a tünetek hátterében. Az egyik egy ismert patogén mutáció, a másik esetben egy korábban még nem közölt frameshift mutációt találtunk (c.2309_2312delTCGT, p.Val771Ilefs*26). Az Angelman-szindrómás betegek mellett két gyermeknél a BP1-BP2 régió deléciója igazolódott.

Az MS-MLPA mind a deléción, mind a metilációs mintázat megváltozásának kimutatására kiválóan alkalmas, ezért AS lehetőségének esetén, javasoltjuk, hogy ez legyen az első vonalbeli vizsgálat. FISH, illetve MLPA negatív esetekben, amennyiben a fenotípus alapján AS valószínű, az UBE3A gén mutációanalízise lehet a következő lépés.

Az I-es és II-es csoportba tartozó betegeket összehasonlítva elmondhatjuk, hogy a II-es csoportba tartozó betegek tünetei enyhébbek, azonban az alacsony esetszám miatt a genotípus-fenotípus összefüggések tekintetében messzemenő következtetéseket levonni nem tudunk.

9p triszómia

Lengyel Anna, Pinti Éva, Tory Kálmán, Kosik Anna, Kiss Eszter,
Tóth Zsuzsa, Fekete György, Haltrich Irén

*Semmelweis Egyetem, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika,
I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest*

A II. sz. Gyermekklinika Citogenetikai Laboratóriumában az utóbbi 10 évben két gyermeknél diagnosztizáltunk 9p triszómiát.

Az első eset egy 2 hetes fiú csecsemő volt, akinél összetett szívfejlődési rendellenesség (nyitott Botallo-vezeték, pitvari sövényhiány, muszkuláris típusú kamrai sövényhiány, bikuszpídális aortabillentyű), hipospadiázis, lábháti ödéma, köröm hipoplázia és minor anomáliák miatt végeztünk citogenetikai vizsgálatot. G-sávós kariotípus elemzéssel az egyik 9-es rövid karon sáv többlet volt látható, melyet a 9-es kromoszóma rövid karra specifikus próbával elvégzett hibridizáció (FISH) 9p parciális duplikációként azonosított. A gyermek kariotípusa: 46,XY,der(9)dup(9)(p24p21).

Második esetünk egy egy hónapos fiú csecsemő, akinek citogenetikai vizsgálatára szomatikus elmaradás, arcdiszmorfia, veleszületett csípőficam és összetett szívfejlődési rendellenesség (jelentős fokú kamrai sövényhiány, aortaív hipoplázia, pulmonális hipertóniával és mérsékelt balkamra diszfunkcióval) miatt került sor. Rutin G-sávós kariotípusvizsgálat során egy számeletti marker kromoszómát láttunk. FISH-vizsgálatok segítségével kimutattuk, hogy a marker a 9-es kromoszóma rövid karjával azonos. A gyermek kariotípusa: 47,XY,+der(9) dup(9)(p10p24)dn.

A teljes vagy részleges 9p triszómia a 4. leggyakoribb triszómia. A szindrómára típusos arckarakter (*microcephalia, brachycephalia, tömeges orr, nagy fülek, ferde szemrések*) és az ujjakat, körmöket érintő elváltozások jellemzőek. Gyakran fordul elő izomhipotónia, mely etetési nehézségekhez vezethet. A csontérés késése szintén a kórkép velejárója lehet, mindezek együttesen a betegek posztnatális növekedési elmaradását eredményezhetik. Belső szervek rendellenességei ritkábban fordulnak elő, a szívvel érintettek gyakorisága 5-25%, legjellemzőbb a kamrai sövényhiány. A betegek fejlődése tág határok között mozog. A motoros készségek terén általában jól fejleszthetőek a gyermekek. Az értelmi elmaradás foka többnyire közepesúlyos-súlyos. A legtöbb nehézség a beszédfejlődés terén nyilvánul meg. Előadásunkban fel szeretnénk hívni a figyelmet egy ritkább kromoszóma-rendellenességre, amely azonban a nemzetközi tapasztalatok alapján gyakran jó prognózissal társul, így az optimális fejlesztés érdekében elengedhetetlen a korai felismerés.

Genomikus populációgenetika

Melegh Béla

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

A „genomwide”, azaz a teljes genomra kiterjedő genetikai marker adatok használata, legyenek azok array, whole exom (WES), vagy whole genome (WGS) szekvenálás eredetűek, eddig nem látott perspektívákat nyitottak az egyes egyének, populációk eredetének, mozgásának, keveredésének, betegségeinek eredetének vizsgálatában is. Az array, WES és WGS a diagnosztikában is hatalmas előre lépések, ezzel párhuzamosan bővül azon algoritmusok száma, melyek ötvözik a genetika szabályait a populációk elemzésére alkalmas matematikai összefüggésekkel. Vezető laboratóriumok tucatnál is több rendkívül informatív, dinamikusan használható, verzatilis programokat fejlesztettek ki. Miután a terület nemzetközi szinten is felszálló ágban van, az említett analízisekre alkalmas adatok folyamatosan akumulálódnak, ami a népcsoportok eredetének, mozgásának, hozott betegségeinek vizsgálatában folyamatosan bővülő finomítási lehetőségének nyit teret. A népcsoportok karakterizálása információt adhat olyan, régmúlt időkből származó betegségekre, melyek esetleg már akár a mezo-neolitikumban keletkeztek, és az abból az irányból származó népcsoportok örökítették ezeket a következő generációk felé. Szemben a korábbi megközelítésekkel, a variábilis single nucleotide polymorphisms (SNP) vizsgálatai egyénenként a több százeres, vagy a milliós nagyságrendben didaktikájában új összehasonlításokat tesznek lehetővé. Az előadás során bemutatásra kerül néhány használatos csomag, illetve néhány konkrét új tudományos eredmény is.

A PITX2 és a NEURL1 génnel asszociált két egynukleotidos polimorfizmus genotípusának vizsgálata pitvarfibrillációs betegekben

Szirák Krisztina, Soltész Beáta, Hajas Orsolya, Urbancsek Réka,
Nagy-Baló Edina, Penyige András, Csanádi Zoltán, Nagy Bálint

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Humán-genetikai Tanszék, Kardiológiai Intézet, Debrecen*

A pitvarfibrilláció (PF) a leggyakoribb szívritmuszavar, amely megnöveli az embólia, a stroke és a szívelégtelenség kockázatát. Előfordulási gyakorisága a populációban 1-2 %. Több SNP-t is azonosítottak, amelyek megnövelik a PF kialakulásának esélyét. Az rs2595104 a PITX2 homeotikus gén enchanszerében van (4q25 régióban). A PITX2 fontos szerepet játszik az embrionális fejlődésben, a szív aszimmetriájának kialakításában. A NEURL1 génben lévő rs6584555 esetében is erős asszociációt találtak a pitvar fibrillációval. A 10. kromoszómán lévő NEURL1 egy E3 ubiquitin ligáz kódol.: 56 pitvarfibrillációs beteget and 58 egészséges kontroll személyt vizsgáltunk. 15-16 ml EDTA tartalmú vérmintát gyűjtöttünk, szilika gyöngyökkel, adszorpción alapuló a LightSnip kittel (TibMolbiol, Berlin, Germany) genomi DNS-t izoláltunk. Az rs2595104 és rs6584555 polimorfizmusok kimutatására a LightCycler 96 készüléket használva a PCR termékek olvadási hőmérséklet analízisével meghatároztuk az adott SNP genotípusát. Allél és genotípus gyakoriságot számoltunk, chi-négyzet teszttel statisztikailag ellenőriztük az eredményeket.

A PITX2 esetén az A rizikó allél gyakorisága 0.41 a kontroll csoportban és 0.44 a betegekben. Az allél alapú esélyhányados 1.142; C.I.=0.675-1.932; p=0.621. A NEURL1 C rizikó allél gyakorisága 0.23 a kontroll csoportban és 0,25 a betegekben. Az allél alapú esélyhányados 1,116; C.I.=0.613-2.032; p=0,718.

Meghatároztuk két, pitvarfibrillációra hajlamosító SNP, az rs2595104 és az rs6584555 SNP genotípusát magyar pitvarfibrillációs betegek egy csoportján, de nem találtunk szignifikáns eltérést az egészséges kontroll csoport és a betegek allél és genotípus gyakorisága között. A duplán heterozigóta (TC;CA) a második leggyakoribb genotípus kombináció volt, a betegeknél gyakrabban fordult elő.

TEK génvariációk vizsgálata allergiás konjunktivitiszben és asztmában

Gál Zsófia, Sándorné Vángor Mónika, Szalai Csaba

*Semmelweis Egyetem, Genetikai,
Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest*

Az asztma egy komplex, multifaktoriális betegség, melynek fő tünetei a légutak reverzibilis elzáródása és a hörgőgörcs. Az allergiás asztmának egyik kísérő tünete lehet még a konjunktivitisz is, amelyre jellemző a szem pirossága, duzzanata, égő és viszkető érzés kíséretében. Az allergiás konjunktivitisz, önálló betegségként is előfordul. Jelenleg nem gyógyítható, csupán a tüneteket enyhítő készítmények állnak a páciensek rendelkezésére.

Egy asztma GWAS vizsgálatban az egyik legerősebb összefüggést a Tie2 tirozin kináz receptort kódoló TEK gén közelében levő variáció mutatta. Egy másik vizsgálatban a TEK gén szerepét mutatták ki akut respirációs distressz szindrómában. A betegség kockázatát növelő 3 SNP-t, melyek a gén expresszióját is befolyásolták, munkacsoportunk tovább vizsgálta gyermek asztmás populációban. Az eredmények alapján az rs581724-es variáció minor allélja asztmával nem mutatott összefüggést, viszont növelte az allergiás konjunktivitisz kialakulásának kockázatát. Kutatócsoportunk a DESENSIT projektben, felnőtt allergiás populáción végzett GWAS vizsgálat során, több allergiás konjunktivitiszt befolyásoló SNP-t azonosított a TEK génben. Célunk a TEK gén ezen variációi közül az 5 legerősebb asszociációt mutató SNP vizsgálata volt felnőtt és gyermek asztmás populációban.

Az 5 darab SNP-t KASP[™] fluorescens, végpont genotipizálási technológiát felhasználva vizsgáltuk, 436 asztmás gyermek, 811 kontroll, valamint 230 felnőtt asztmás mintán.

A kiértékelés során 7900 SDS v2.4.1 szoftver segítségével állapítottuk meg a minták genotípus mintázatát. A genotípusok eloszlásának eltérését Hardy-Weinberg egyensúlytól (HWE), valamint az allélok és genotípusok asszociációját asztmához, különböző fenotípusaihoz, többek között allergiás konjunktivitiszhez és laboratóriumi paraméterekhez Pearson-féle khí-négyzet próbával értékeltük.

A genotípusok, egy SNP kivételével nem mutattak szignifikáns eltérést HWE-től. Az eredmények további kiértékelése folyamatban van.

Amennyiben a TEK gén szerepét allergiás konjunktivitiszben sikerül igazolni, a gén terméke, a Tie2 receptor egy ígéretes gyógyszercélponthoz lehet.

Genetikai vizsgálatok psoriasisban

Sawhney Irina, Penyige András, Janka Eszter Anna, Háló Zita,
Fiatal Szilvia, Ádány Róza, Remenyik Éva

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati Tanszék,
Humánogenetikai Tanszék, Debreceni Egyetem, Népegészségügyi Kar,
Megelőző Orvostani Intézet, Debrecen*

A psoriasis szisztémás, multifaktoriális, akár több szervet is érintő krónikus gyulladós bőrbetegség, melynek a háttérben számos genetikai faktort azonosítottak, de ugyanakkor a környezeti faktorok is fontos szerepet játszanak a kialakulásában. Betegségek genetikai háttérének pontosabb meghatározására jól használhatóak az egy nukleotid polimorfizmusok (SNP) felhasználásával végzett genetikai asszociációs vizsgálatok.

Az irodalmi adatok alapján 18 kiválasztott génben található 19 SNP genotípusa és a psoriasis kialakulása közötti asszociációt vizsgáltuk a magyar általános populáció és egy pikkelysömörös betegpopuláció összevetésével, eset-kontroll típusú retrospektív vizsgálatban.

A psoriasis mintákat (N=782) a debreceni és a budapesti Bőrgyógyászati Klinika, míg a magyar általános populáció mintáit (N=2000) a Debreceni Egyetem Megelőző Orvostani Intézete szolgáltatta. Az SNP-k genotipizálását a svédországi Karolinska Intézet munkatársai, a populációk statisztikai elemzését a Debreceni Egyetem Humánogenetika Tanszéke végezték el. A genotípusok HW egyensúlytól való eltérését Fisher-egzakt teszttel vizsgáltuk. Az allél és genotípus alapú asszociációs számításokat χ^2 próbával vagy Fisher-féle egzakt teszttel végeztük el, a genotípusok és a psoriasis kialakulása közötti asszociáció erősségét az esélyhányados (OR) és a 95% CI meghatározásával jellemeztük, kodomináns, domináns, recesszív, over-domináns és log-additív genetikai modell felhasználásával.

A 10 szignifikáns SNP közül 9 SNP mutatott szoros, szignifikáns asszociációt psoriasisal, 6 SNP protektívnek bizonyult, 4 SNP pedig fokozta a betegség kialakulásának esélyét. A PON1 gén rs662 SNP-a közvetetten, komorbidityások révén növelheti a psoriasis kialakulásának esélyét.

A vizsgálatunk azt mutatta, hogy a magyar populációban a pikkelysömör megbetegedéssel kapcsolatot mutató egyes SNP-k hatása eltér az irodalomban eddig leírtaktól. Ennek háttérben állhatnak metodikai okok (a populáció elemszáma) vagy a vizsgált populációk genetikai különbsége is. Megállapítható, hogy további vizsgálatok szükségesek a psoriasis genetikai háttérének pontosabb meghatározására.

A Kaukázus roma genetikai örökségre való hatásának feltárása teljesgenom adatokon alapuló vizsgálatokkal

Bánfai Zsolt, Ádám Valerián, Büki Gergely,
Czakó Márta, Melegh Béla

*Pécsi Tudományegyetem, Orvosi Genetikai Intézet,
Szentágotthai Kutatóközpont, Pécs*

A roma nép megközelítőleg 10 millió fős létszámával Európa egyik legjelentősebb kisebbsége. Északnyugat-Indiából történő kivándorlásuk 1000-1500 évvel ezelőtt történt. A romák migrációs útvonala, amelyet a kulturális antropológia, a nyelvészet és történelmi feljegyzések segítségével rekonstruáltak, magába foglalta Közép-Ázsiát, a Közel-Keletet és a Kaukázust. Ezen régiók jelentősége a mai romák leszármazásában azonban máig elhanyagolt kutatási területnek számított.

A tanulmányban a Kaukázus és további vele szomszédos régiók roma leszármazásban játszott jelentőségét vizsgáltuk meg. Vizsgálatainkat 158 nemzetközi kollaborációban gyűjtött és genotipizált európai roma minta, ezenkívül 40 különböző populáció (európai, kaukázus régiói, közel-keleti, dél-ázsiai) teljes genomra kiterjedő autoszomális marker adatainak felhasználásával végeztük. Populációstruktúra és leszármazást vizsgáló algoritmusokat alkalmaztunk a romák és a különböző régiók kapcsolatának vizsgálatára. További analíziseink formális, F- és D-statisztikákat alkalmazó keveredési teszteken, leszármazás alapján azonos DNS szakaszok elemzésén és a keveredés okozta kapcsoltsági egyenlőtlenség jelenségén alapulnak.

A keveredési tesztek segítségével igazolásra került, hogy a romák valóban keveredtek a tanulmányban vizsgálat alá vont populációkkal. A keveredések időrendjét, ezáltal a vándorlás irányát és útvonalát keveredés okozta kapcsoltsági egyenlőtlenségek és leszármazás alapján azonos DNS szakaszok hosszának vizsgálatával megerősítettük.

A romák leszármazásában az egyes régiók jelentőségét a leszármazás alapján azonos DNS szakaszok átlagos páronkénti megoszlásának segítségével határoztuk meg. Eredményeink alapján a romák genetikai örökségében a Kaukázus régió az európai és dél-ázsiai fő források mellett a dél-ázsiaihoz hasonló mértékű, jelentős szerepet játszik. Ugyanakkor a Közel-Kelet befolyása sem elhanyagolható, amely ugyan valamelyest elmarad a Kaukázusétól, de a leszármazás alapján azonos DNS szegmensek vizsgálata itt is jelentősebb leszármazásra utal.

Usher szindróma: Kétoldali idegi eredetű hallásvesztés, retinitis pigmentosa

Düh Adrienn, Zima Judith, Ripszám Réka, Pintér Adrienn Lilla,
Till Ágnes, Hadzsiev Kinga, Melegh Béla

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetika Intézet, Pécs*

Az Usher szindróma egy autoszomális recesszív öröklődésmentet mutató betegség, mely kétoldali sensorineuralis halláscsökkenéssel és retinitis pigmentosa következtében kialakuló, progresszív látásvesztéssel jár, valamint belső fül eredetű egyensúlyzavarral is társulhat. A szindrómán belül három csoportot (1-es, 2-es, 3-as típus) különíthetünk el a halláskárosodás súlyossága, a tünetek kezdeti megjelenése és az egyensúlyzavar megléte vagy hiánya alapján. A három fő csoport a genetikai háttér alapján további altípusokra osztható. Az 1-es típus esetén a halláskárosodás kifejezett, már születéskor vagy az első életévekben jelentkezik, egyensúlyzavarral társul, a progresszív látásromlás már csecsemőkorban jelen lehet. A 2-es típusnál a halláskárosodás súlyos-középsúlyos, születéskor jelentkezhet és - ellentétben az 1-es és 3-as típussal- nem társul egyensúlyzavarral. A 3-as típusnál a halláskárosodás csak később, fiatal gyermekkorban jelentkezik.

Betegünk 23 éves korában jelentkezett genetikai tanácsadásunkon 5-6 éves kora óta fennálló kétoldali halláskárosodás és 23 éves korában igazolódott retinitis pigmentosa miatt. A családban idegi eredetű halláskárosodás és kétoldali látásvesztés nem fordul elő (családi anamnézis negatív).

A mitokondriálisan öröklődő halláskárosodásért felelős gének, valamint az autoszomális recesszíven öröklődő halláscsökkenést okozó GJB2 gén vizsgálata során defektus nem igazolódott. A kétoldali halláskárosodás és látásvesztés társulása miatt felmerült Usher szindróma lehetősége, emiatt Usher szindróma specifikus, 13 gént vizsgáló NGS panel vizsgálata történt, melynek során az USH2A génben két patogén heterozigóta eltérés igazolódott (USH2A:c. 11864G>A, USH2A:c.9424G>T), ennek alapján az Usher szindróma 2-es típusa alátámasztásra került.

Idegi eredetű halláscsökkenés és retinitis pigmentosa együttes előfordulása esetén a leggyakoribb genetikai betegség az Usher szindróma.

Két leánygyermek esetében előforduló Netherton szindróma klinikai és genetikai vizsgálata

Farkas Katalin, Török Dóra, Dalmády Szandra, Horváth Emese,
Nagy Nikoletta, Csoma Zsanett, Széll Márta

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika,
MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged*

A Netherton szindróma (OMIM 256500) az ichthyosis kórformák közé sorolható ritka monogénes bőrbetegség, amelyet születéskor erythroderma és atópiás dermatitis típusos tünetei jellemeznek, majd az életkor előrehaladtával erythaemás hámló felszínű plakkok jelennek meg. A bőrtünetek mellett a haj strukturális elváltozásai (trichorrhexis invaginata, bambuszhaj), valamint immunológiai tünetek (emelkedett IgE szint, ételallergia) is jellemezik a betegséget. A szindróma autoszómális recesszív módon öröklődik, amely kialakulásának hátterében a *SPINK5* (OMIM 605010) gén homozigóta vagy compound heterozigóta mutációi állnak.

Két beteg, egy 16 és egy 8 éves leánygyermek esetét ismertetjük, akiknek születésük óta hullámzó lefolyást mutató bőrtüneteik voltak, amely hátterében több kórkép lehetősége is felmerült. A bőrtüneteik az évek alatt lassú változást mutattak és egyre nyilvánvalóbbá váltak a Netherton szindrómára utaló jellegzetes tünetek. Ezért vizsgálataink során célul tűztük ki a betegség hátterében álló kóroki genetikai eltérés azonosítását a *SPINK5* génen.

A *SPINK5* gén mutáció analízise során mindkét beteg esetében azonosítottuk a háttérben álló mutációkat compound heterozigóta formában. A 16 éves gyermek esetében az irodalomból ismert kóroki c.1111C/T p.Arg371Ter (rs777436361) nonszensz és c.2468delA p.Lys823ArgfsTer (rs565782662) frameshift mutációkat detektáltunk. A 8 éves páciens esetében egy, eddig az irodalomban nem leírt, feltehetően kóroki c.454insT p.Lys152Ter nonszensz variánst és az irodalomból ismert c.1302+4A/T (rs201269335) splice site mutációt azonosítottuk.

A mutáció azonosítása révén lehetőség nyílik genotípus-fenotípus összefüggések felállítására, ezáltal a szindróma korai diagnosztizálására ezen súlyos tünetekkel járó, napjainkban is 30-40%-os mortalitási arányú kórkép esetében. Vizsgálataink folytatásaként a beteg családtagjainak genetikai vizsgálatát és prenatális diagnosztika felajánlása révén a családtervezés segítségét tervezzük.

NGS alapú genetikai vizsgálatok jelentősége hirtelen szívhalált okozó kardiomiopátiákban és malignus aritmiákban

Kósa János, Uzonyi Gábor, Horváth Viktor, Tobiás Bálint, Kocsis-Deák Barbara, Árvai Kristóf, Balla Bernadett, Kövesdi Andrea, Takács István, Környei László, Lakatos Péter

*Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest,
PentaCore Laboratórium, Budapest, Uzsoki Utcai Kórház,
Gottsegen György Országos Kardiológiai Intézet, Budapest*

Előadásunkban összefoglaljuk a genetikai vizsgálatok jelenlegi szerepét különböző genetikai kórképekben, kiemelten foglalkozva a hirtelen szívhalállal, amely olyan kardiális eredetű, természetes halál, amikor a tünetek megjelenése után váratlanul - gyakran egy órán belül - hirtelen eszméletvesztés majd szívmegállás következik be. Incidenciája életkorfüggő, 35 év felett 0,1-0,2%-ra nő, a férfiakat sűrűbben érinti (12,3% vs 4,2%, Framingham Heart Study). Az életkorral a hirtelen szívhalál eseteinek etiológia szerinti megoszlása is változik: gyermekek és fiatal felnőttek esetében dominálónan genetikai rendellenesség, 35 év felett dominálónan koronária illetve pulmonalis embólia eredetű betegség. A prognózisa igen rossz, a túlélés a kórházi elbocsátásig mindössze 5% körül van.

Napjainkban a szív munkaizomrost akciós potenciálját kialakító ioncsatornák illetve az azokat kódoló gének és a hirtelen szívhalál hátterében álló betegségek megoszlása ismeretében lehetővé válhat a fokozott kockázat korai felismerése, elsősorban olyanok extrém terhelés alatt állók esetében, mint pl. az élsportolók.

Bemutatunk saját eseteket is, egyik esettanulmányunkban 7 éves korában hirtelen szívhalált követően reanimált, majd kardiális MRI vizsgálattal is igazoltan hipertrófiás kardiomiopátiában szenvedő gyermek teljes exom szekvenálását követően a hipertrófiás kardiomiopátiára is jellemző típusos gének részletes analízisét végeztük el. Ennek során a titin (TTN) gén két, ismeretlen jelentőségű variánsa (rs201043950 és rs72646808) mellett a myozin binding protein C3 (MYBPC3) gén ismert single nucleotid polimorfizmusát (p.R495Q), valamint ugyanezen gén mindeddig ismeretlen frameshift (p.S593fs*11) mutációját azonosítottuk.

A bemutatott esetek ráirányítják a figyelmet a genetikai vizsgálatok diagnosztikai célú, egyre elterjedtebb használatának lehetősége mellett a külön-külön gyakrabban, együttesen igen ritkán előforduló mutációk korai

betegséget okozó hatására és akár kiderülhet, hogy ma ismert - jellemzően nem genetikainak gondolt - kardiológiai betegségek háttérében genetikai kóroki tényező húzódik meg, sőt a különböző betegségek közös platformra is kerülhetnek majd egyszer. A genetikai vizsgálatok költségeinek csökkenésével a korai diagnózis a különböző kardiomiopátiák és ingerületképzési/vezetési zavarok egyik legsúlyosabb szövődményének, a hirtelen szívhalálnak a megelőzésében is szerepet játszhat.

Kongenitális klórvesztő hasmenésben szenvedő fiúgyermek genetikai vizsgálata

Török Dóra, Farkas Katalin, Dávid Éva, Nagy Nikoletta, Horváth Emese,
Kiss Zsuzsanna, Oroszlán György, Balogh Márta, Széll Márta

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Szeged, Markusovszky Egyetemi Oktatókórház,
Csecsemő- és Gyermekgyógyászati Osztály, Genetikai Tanácsadó
Szakambulancia, Szombathely,
MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged*

A kongenitális klórvesztő hasmenés (CCD, OMIM 214700) egy olyan ritka gyermekgyógyászati kórkép, amelynek jellegzetes tünetei közé tartozik a vizeletszerű hasmenéses széklet, hypochloremia és metabolikus alkalózis. A betegség kialakulásának hátterében az *SLC26A3* gén (OMIM 126650) mutációit azonosították. A gén egy transzmembrán proteint kódol, amely az intesztinális klorid felszívódásban elengedhetetlen szerepet játszik.

Vizsgálataink során célul tűztük ki egy 32. gesztációs hétre született, jelenleg 3 éves fiúgyermek vizsgálatát, akinél malrotáció következtében kialakult bélelzáródás és hasi disztenzió miatt műtéti beavatkozásra került sor. Folyamatos elektrolit pótlást igényelt a hasmenéses epizódok miatt. A székletben detektált emelkedett klorid koncentráció miatt felmerült a CCD diagnózisa, ezért az *SLC26A3* gén mutáció analizisét végeztük el direkt szekvenálással.

A szekvenálás eredményeként az *SLC26A3* génen két heterozigóta mutációt detektáltunk: az irodalomban korábban nem leírt c.1295delT, p.Leu432Argfs*11 frameshift és az irodalomból már ismert c.2024_2026dupTCA, p.Ile675_Arg676insLeu inframe mutációkat. A CCD autoszómális recesszív öröklésmentet mutató kórkép, a háttérben álló mindkét mutációt azonosítottuk compound heterozigóta formában.

Korábban magyarországi betegpopulációban még nem írtak le CCD-vel diagnosztizált esetet. A betegség súlyos tünetekkel jár, akár letális is lehet. A mielőbbi klinikai gyanú és a diagnózis megerősítése molekuláris genetikai vizsgálattal fontos az adekvát terápia elkezdéséhez. A továbbiakban a beteg családtagjainak genetikai vizsgálatát és a későbbiekben a prenatális diagnosztika felajánlása révén a családtervezés segítését tervezzük.

Két cleidocraniális dysplasiás családunk esete

Ripszám Réka, Hadzsiev Kinga,
Zima Judith, Till Ágnes,
Fekete Anett, Melegh Béla

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Pécs,
Semmelweis Egyetem, I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest*

A cleidocraniális dysplasia a RUNX2 gén heterozigóta funkcióvesztő mutációjával összefüggésbe hozható betegség. A cleidocraniális dysplasia főbb tünetei közé a hosszú ideig nyitott koponyavarratok, clavícula hypoplasia vagy aplasia, széles symphysis, az 5. ujjak rövid középső ujjperce, fogászati eltérések, és gyakran vertebrális malformációk sorolhatók.

Két cleidocraniális dysplasiás család esetét ismertetjük.

Az első családban a proband egy 7 éves fiúgyermek, akit 5 éves korában vizsgáltunk először alacsonynövés, szélesen nyitott nagykutacs, hypoplasziás clavícula, késői fogzás, sacralis spina bifida és coccygealis csigolyaszelvények hiánya miatt. A tünetek hátterében egy patogén heterozigóta 4 nukleotidot érintő duplikáció RUNX2:c.906_909dupTTAC igazolódott a RUNX2 gén 7-es exonjában. Édesanyjának hypoplasticus claviculája, fogfejlődési rendellenessége van, édesanyja lánytestvérének is hypoplasziás a claviculája, későn törtek elő a maradandó fogai, anyai nagymamának hypoplasziásak a kulcsontjai, symphysis tág, 5-ös ujj körömpercei rövidek. A családtagokban a fent említett mutáció célzott vizsgálata történt, midegyik érintett családtagban detektálni tudtuk. E.sz. az anyai dédnagymama is érintett volt.

A második családban egy 43 éves nőbeteget vizsgálatunk, aki 41 évesen jelentkezett genetikai tanácsadásunkon hypoplasticus clavícula, késői koponya elcsontosodás, fogfejlődési rendellenesség miatt. A tünetek hátterében egy patogén heterozigóta missense eltérést RUNX2:c.673C>T sikerült igazolni a RUNX2 génben. Jelenleg 2,5 éves kislányát tátongó nagykutacs, hypertelorismus, lapos orrgyök, hypoplasziás clavícula, mandibula középső részének folytonosság hiánya miatt vizsgáltuk. A fent említett mutáció célzott vizsgálata folyamatban van intézetünkben.

Egy extrém ritka betegség: korai öregedés szindróma neonatális típusa

Zeke Helga Gyöngyi, Molnár Mária Judit

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

A neonatális progeroid szindróma a progériák (korai öregedés) csoportjába tartozik és a klasszikus Hutchinson-Gilford progériától a már születéskor észlelhető volta különbözteti meg. Öröklődése autoszomális recesszívnek látszik, pontos genetikai háttere ismeretlen. Extrém ritka betegség, világszerte 30 beteget írtak le.

Betegünk 2008-ban született, 35. terhességi héten 1160 g-al. Már születés után feltűnő volt a szomatikus retardáció, subcutan zsírszövet hypotrophiája, fokozott vénás rajzolat, dysmorphia (hypertelorismus, mélyen ülő fülek, lóhere alakú koponya, csőrszerű orr, hypoplasiás maxilla). A családban nem fordult elő hasonló betegség. Születése utáni időszakban táplálási nehezítettség, izomhypotonia volt jellemző és többször lázas eclapsia jelentkezett. A koponya MR vizsgálat híd, mesencephalon és hippocampus hypoplasiát, corpus callosum agenesiát írt le. Az EEG-n aszimmetrikus háttértevékenység és lassú elemekből álló generalizált paroxysmusok voltak megfigyelhetők. Pszichomotoros retardatioja miatt jelenleg fejlesztésben részesül.

A betegség genetikai hátterét nemzetközi segítséggel vizsgáljuk. WES elemzés kapcsán a PYCR1 génben compound heterozygota formában talált eltérés részben magyarázza a tüneteket. A genetikai háttér megértése a betegség megismerésén túl az öregedés mechanizmusainak tisztázásában is segítséget jelenthet.

Genotípus-fenotípus variabilitás pontocerebelláris hypopláziában két esetünk kapcsán

Zima Judith, Hadzsiev Kinga, Till Ágnes,
Ripszám Réka, Melegh Béla

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Pécsi Szentágotthai Kutatóközpont, Pécs*

A Pontocerebelláris hypoplázia (PCH) klinikailag és genetikailag heterogén betegségcsoport, melyben az agyfejlődés, legfőképpen az agytörzs és a cerebellum sérül. Az agy növekedés összességében is károsul, emiatt postnatális microcephalia társul a tünettanhoz. A pontocerebelláris hypopláziáknak jelenleg 10 altípusa ismert, melyek közül az 1-es és 2-es típus a leggyakoribb. Az öröklődés autoszomális recesszív, tekintettel arra, hogy a betegség ritka, a prevalencia ismeretlen. A PCH1 spinális muszkuláris atrofia-szerű tünettannal jár, míg a PCH2 típusban a motoros készségek hiánya, nyelési nehezítettség, valamint a kommunikáció hiánya dominál. Dyskinesia és convulsió is gyakori. A várható élettartam jelentősen lerövidül.

Első esetünk: 11 hónapos fiúgyermeket progresszív microcephalia, hypotóniás cerebral paresis, súlyos pszichomotoros elmaradás miatt vizsgáltuk. Microaspirációk, recidív légúti infekciók miatt gyakran hospitalizálták. 2,5 évesen a koponya MR vizsgálat, valamint ezzel egyidőben az izombiopszián látott neurogén izomatrófia felvetették a PCH1-es típusának lehetőségét. 3 éves korában légzési elégtelenségben exitált.

Második esetünk: 1,5 hónapos leány csecsemőt microcephalia, 5 órás életkorban jelentkező, 4 végtagra terjedő nagyhullámú tremor, fokozott végtagi izomtónus, figyelemzavar, valamint a koponya MR vizsgálaton igazolódott kiterjedt pons és mesencephalon hypoplasia miatt vizsgáltuk.

Mindkét esetben NEAK finanszírozás keretében Pontocerebelláris hypoplázia NGS panel vizsgálatot kértünk az MGZ laboratóriumban. Az első esetben a PCH1B típusa (EXOSC3 gén: c.92G>C homozigóta (p.Gly31Ala)) igazolódott, melynek hordozását célzott mutációvizsgálattal megtaláltuk mindkét szülőben. A második esetben a PCH2A típusa (TSEN54 gén: c.919G>T homozigóta (p.Ala307Ser)) igazolódott, melynek hordozását szintén megtaláltuk mindkét szülőben.

Következtetésként a pontocerebelláris hypoplázia altípusokba való besorolását gyakran a genetikai vizsgálat segíti elő.

FOXP3 gén splice mutációja IPEX szindrómában

Tóth Beáta, Tihanyi Mariann, Kárteszi Judit, Balogh István

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen,
Zala Megyei Szent Rafael Kórház, Zalaegerszeg*

Az X-kromoszómához kötött immundiszreguláció, polyendocrinopathia, enteropathia (IPEX) szindróma egy multiszisztémás autoimmun megbetegedés, melyet az Xp11.23-n található FOXP3 gén recesszív öröklődésű mutációja okoz. Az IPEX a primer immundeficienciák csoportjába sorolható betegség, a klinikai tünetek és az immunológiai fenotípus mellett a pontos diagnózishoz elengedhetetlen a molekuláris genetikai vizsgálat.

Kutatómunkánk során egy IPEX szindróma klinikai képét mutató kisfiú és családtagjai molekuláris genetikai vizsgálatát végeztük el. A FOXP3 gén nukleotid sorrendjét Sanger szekvenálással határoztuk meg perifériás vérből izolált DNS és RNS mintákon. Az azonosított mutáció patogenitását a Treg sejtek számának meghatározásával és újgenerációs RNS szekvenálással meghatározott génexpressziós mintázat elemzésével vizsgáltuk.

A beteg mintájában a FOXP3 génben egy nukleotid cserét azonosítottunk hemizigóta formában. A tünetmentes édesanya mintájában heterozigóta formában kimutatható volt a genetikai eltérés, míg a három lány és egy fiútestvér vad típusú szekvenciát mutatott. Az általunk azonosított mutáció a 7. exon utolsó nukleotidját érinti, ami hasítási hely defektust eredményez, a 7. exon teljes kiesését okozva az RNS érése során. A beteg mintájában a Treg sejtek számának csökkenése a kor specifikus kontrollhoz képest és az eltérő génexpressziós mintázat a FOXP3 protein funkciójának károsodását igazolta.

A molekuláris genetikai vizsgálatnak köszönhetően azonosítottunk egy ártalmatlan genetikai eltérésnek mutatkozó, de mégis kóroki mutációt, ami hasítási defektust okozva károsítja a FOXP3 fehérje szerkezetét és felelős az IPEX szindróma kialakulásáért.

**Pfeiffer-szindrómát okozó új FGFR2 mutáció azonosítása
új-generációs szekvenáláson
alapulógénpanel vizsgálat alkalmazásával**

Kocsis-Deák Barbara, Árvai Kristóf, Klujber Valéria, Balla Bernadett,
Tóbiás Bálint, Kósa János, Lakatos Péter

*Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest,
PentaCore Laboratórium, Budapest*

A vázrendszert érintő genetikai rendellenességek klinikailag és genetikailag is jelentősen heterogén betegségecsoportot képviselnek, melyek különböző mértékben befolyásolják a csontképződést. Ma már több mint 400 olyan betegséget ismerünk, melyet valamilyen csontrendszeri rendellenesség okoz és ezek legtöbbször genetikai hiba eredményezi. A Pfeiffer-szindróma egy autoszómális domináns öröklődésű betegség, melynek fő klinikai tünetei közé tartozik a koponya torzulása. A koponyacsontok korai fúziója megakadályozza a koponya normális növekedését, mely a fej és az arc formájának kialakulását is érinti. Jelen előadásomban egy 5 és fél hónapos kislány esetét szeretném bemutatni, aki egészséges szülőktől született, súlyos csontdeformitással.

Páciensünk szájnyalkahártya mintájából teljes genomi DNS-t izoláltunk, amit egy széleskörű, célzott génpanel segítségével elemeztünk. Ez az új-generációs szekvenáláson (NGS) alapú panel tartalmazta azokat a géneket, melyek a leggyakrabban előfordulnak csontdeformitások esetében, így összesen 186 gén teljes kódoló szakaszait vizsgáltunk meg. A szekvenálás során kapott leolvasásokat a referencia genomhoz (hg19) illesztettük, majd a variánsokat ESP, ExAc, ClinVar és HGMD adatbázisok segítségével osztályoztuk.

Az elemzés végére egy valószínűleg patogén, heterozigóta mutációt detektáltunk az FGFR2 génben (c.940-4_945delCTAGGCCGCC), amely tartalmazza a 8-as exon splicing helyét és az első két kodonját is. Ilyen típusú mutációt eddig nem írtak le az FGFR2 génben, azonban a mutáció genomi helyzete részben egybeesik más, ismert mutációkkal, melyeket már összefüggésbe hoztak Pfeiffer szindrómával.

Egy többgénes vizsgálati megközelítés nagyon hasznos eszköz lehet olyan eseteknél, ahol a páciens fenotípusa több szindrómára is ráillik. A segítségével meg tudtuk állapítani, hogy a bemutatott esetben az FGFR2 gén c.940-4_945delCTAGGCC heterozigóta mutációja áll fenn, mely a Pfeiffer-szindróma diagnózisát teszi valószínűvé, szemben a klinikailag szintén felmerült Crouzon-szindrómával.

NIPT státusz 2018

Török Olga

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és
Nőgyógyászati Klinika, Debrecen*

Az anyai vérben keringő szabad magzati DNS fragmentumok vizsgálatán alapuló noninvazív prenatális tesztek (NIPT) a leggyakoribb számbeli kromoszóma-
rendellenességek leghatékonyabb szűrő módszerei. A klinikai gyakorlatba
történő bevezetésük Magyarországon 2012-ben indult, és napjaikban a
piacon már legalább hét különböző teszt közül választhatnak a várandósok.
Az előadás elsődleges célja annak vizsgálata, hogy a 21-triszómia prenatális
diagnosztikájára milyen hatást gyakorolt az új módszer elterjedése.

Az invazív tesztekéről a 2012-2014. közötti időszakra vonatkozó adatok
az OEP adatbázisából, a 2015-2017. közöttire a magyarországi prenatális
diagnosztikai központok munkatársaitól, a NIPT-ek esetszámai a magyar piac
több mint 90 %-át lefedő 5 nemzetközi laboratórium hazai szolgáltatóitól
származnak. A 21-triszómia prenatális diagnosztikájának helyzetéről
információt a VRONY munkatársai nyújtottak.

A NIPT-ek esetszáma Magyarországon folyamatos emelkedést mutat, 2015-
ben 2884, 2016-ban 4058, 2017-ben 6757 vizsgálat történt. Ezzel egyidejűleg
az invazív mintavételek útján végzett cytogenetikai vizsgálatok száma ugyan
folyamatosan csökkent, a 2012-ben végzett 6662-ről 2017-ben 3989-re, de ez
a csökkenés jóval kisebb mértékű, mint az a NIPT-ek számának emelkedése
alapján várható volt. A VRONY adatai szerint ugyanakkor a 2012 és 2016
között prenatálisan felismert 21-triszómiás esetek aránya érdemi változást
nem mutatott, 2012-ben 68%, 2016-ban 62%. Az új adatjelentési rendszer
bevezetését követően a bejelentési fegyelem sajnos romlott, és feltehetően a
2015-16. közötti időszakban az esetszámok nem tükrözik a valós helyzetet, a
2017-es adatok még feldolgozás alatt állnak.

Az eredmények a megfelelő hatékonyságú első-lépcsős szűrővizsgálat, a
kombinált teszt országos, egységes alkalmazásának a hiányát tükrözik. Az
invazív vizsgálatok számának további érdemi csökkenése csak egy megfelelő
szűrővizsgálati stratégia bevezetésétől remélhető.

Az előadás célja ezen igény megfogalmazásán túlmenően felhívni a
figyelmet a VRONY bejelentési fegyelem javításának fontosságára, továbbá
egy olyan adatgyűjtési rendszer megindításának szükségességére, amelyben
a NIPT-ek eredményeinek validálását végző prenatális központok eredményei
kerülnének bejelentésre és összesítésre.

Transzlokáció következtében kialakult Wolf-Hirschhorn szindróma bemutatása

Kékesi Anna, Tankó Lenke, Kurcsics Judit,
Mátyás Szabolcs, Kovács Péter, Tímár László, Tory Vera, Altmann Anna,
Karcagi Veronika

*Istenhegyi Géndiagnosztikai Központ, Budapest, Kaáli Intézet, Budapest,
ÁEEK-Genetikai Tanácsadó, Budapest, Szent János Kórház, Neurológia,
Budapest*

A Wolf-Hirschhorn (WHS) szindróma egy súlyos fejlődési rendellenességekkel járó kromoszómális eltérés. Esettörténetünkben páciensünk két gyermekénél WHS szindróma igazolódott, míg a harmadik terhességének CVS vizsgálata és egy korábbi IVF ciklusból származó embrió preimplantációs genetikai vizsgálata (PGD) is genetikai eltérést mutatott.

Az édesanya 9 hónapos, első gyermekével kereste fel Intézetünket. Az ultrahanggal diagnosztizált ductus venosus agenesia miatt végzett prenatalis vizsgálat nem mutatott kromoszóma rendellenességet. A kisfiú fenotípusos jegyei alapján külföldi együttműködésben arrayCGH vizsgálatot kezdeményeztünk, amely WHS szindrómát igazolt. Ennek hátterében kiegyensúlyozatlan transzlokáció állt [46,XY,ish der(4)t(3;4)(p26;p16.3)], melyet Intézetünkben FISH vizsgálattal erősítettünk meg. A szintén IUDR tünetekkel megszületett második gyermek véréből történő array CGH vizsgálat a bátyjával megegyező eltérést mutatott. A szülők véréből végzett citogenetikai vizsgálat során FISH módszerrel az édesanyánál igazolódott a 3-as és 4-es kromoszóma telomérájának kiegyensúlyozott transzlokációja.

Páciensünk harmadik terhességéből vett chorion mintából arrayCGH vizsgálat 3p mikrodéléciót és 4p mikroduplicációt mutatott, melyet FISH módszerrel megerősítettünk. A szülők a terhesség befejezése mellett döntöttek.

A korábbi IVF ciklusból származó embrió PGD vizsgálata kiegyensúlyozatlan szegregációt mutatott mozaikos formában, így az embrió genetikai szempontból nem volt alkalmas a beültetésre.

Ritkán előfordul, hogy a kromoszómák olyan kis régióját érinti az átrendeződés, amely a hagyományos citogenetikai módszerrel nem ismerhető fel. Kiegyensúlyozatlan transzlokáció esetén az arrayCGH vizsgálat ad egyértelmű diagnózist. Amennyiben a kromoszómális eltérések detektálásra kerülnek, az eredmény alátámasztására FISH vizsgálattal van mód.

A PGD módszer segítségével lehetőség van a genetikailag ép embriók beültetésére, így elkerülhetővé válik a terhesség megszakításával járó pszichés és fizikai megterhelés. Jelen esetben a család számára ez az egyetlen elfogadható lehetőség a súlyos rendellenesség ismétlődésének megelőzésére.

**NIFTY® – a legtöbb elemszámmal validált
non-invazív prenatális teszt – első 6000 magyarországi esetének
értékelése**

Bárányné Krisán Ágnes Olga, Bátorfi József,
Hajdu Krisztina, Kékesi Anna, Kurcsics Judit, Reichert Anna,
Régi Marianna, Vizsy Nóra

Istenhegyi Géndiagnosztikai Központ, Budapest

2013 júniusa óta elérhető Magyarországon a világ vezető non-invazív prenatális tesztje (NIPT), a NIFTY® teszt, mely az anyai vérben keringő, a placenta trophoblast sejtjeinek apoptózisa következtében keletkezett, 150-200 bázispár hosszú szabad magzati DNS fragmentumok (cffDNA) új generációs teljes genom szekvenálással történő vizsgálatából áll. Az első 6000 eset feldolgozása történt meg eddig, melyből 92 esetben kapott a kismama pozitív eredményt.

A vizsgálatot többnyire – 75%-ban – a 12-14. terhességi héten kéri a páciensek, a 12. heti genetikai ultrahang (csak UH: 19,6%) és kombinált teszt (53,6%) elvégzésekor. Pácienseink 72,2%-a 35 éves vagy idősebb.

A pozitív eredmények 47,8%-a (44 eset) Down szindrómát detektált. Emellett 10 esetben Edwards, 8 esetben Patau szindrómát találtunk. Nemi kromoszóma rendellenességek közül 7 Klinefelter, 6 TriplaX, 9 Turner és 1 Jacob pozitív eredmény adódott eddig. Két esetben detektáltunk 16-os triszómiát, az egyik esetben ezzel együtt 22-es triszómiát is. Ezekon felül öt járulékos eredményünk született (3 deléció és 2 duplikáció).

A 92 pozitív esetből 80 esetben (87%) van információnk a terhességek további kimeneteléről. Az eredményeket magzati kromoszóma vizsgálattal igazoltuk 52 esetben (65%) – ebből kettőnél mozaikos formában. Két esetben anyai rendellenességre került fény (dup(21q22.12q22.13,580.14K) mikroduplikáció, illetve mozaik Turner szindróma), egy esetben inverziót találtunk, egy kismama elvetélt, két esetben VTS állt a háttérben, hat várandósságot pedig ultrahang alapján megszakítottak. Öt esetben nem történt CVS/AC, tizenegy esetben pedig nem igazoltuk a NIFTY® eredményét – ezekben az esetekben magzatvíz mintavételt végeztünk, a fals pozitív eredményeket lepényi mozaicizmus okozhatta.

A 37 év feletti kismamák esetében szorosabb terhesgondozás szükséges, számukra a NIFTY® teszt jó alternatíva lehet, hiszen a vizsgálathoz csupán 10 ml anyai vér szükséges, így vetélési kockázat nélkül lehet 99% feletti

szenzitivitással szűrni a három leggyakoribb kromoszóma rendellenességet. Ezen felül 84 deléciós/duplikációs szindróma – Magyarországon a legszélesebb panel – is detektálható, melyekre kromoszóma vizsgálattal nem derül fény. A teszt 10 hetes kortól kérhető, 5-7 munkanap alatt ad eredményt, így segít, hogy a rendellenességek megfelelő időben kerüljenek felismerésre.

Újgenerációs nem invazív prenatális vizsgálati módszerek kromoszóma és génszintű eltérések kimutatására

Széll Márta

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Szeged*

A VERACITY egy új generációs nem-invazív prenatális teszt. A molekuláris genetika és diagnosztika élvonalbeli kutatásait és fejlesztéseit alkalmazza egy szabadalmaztatott technológia alapján, amelyet az NIPD Genetics fejlesztett ki azzal a céllal, hogy kiküszöböljék az egyéb NIPT technológiák hiányosságait.

A VERACITY újszerű, célzott sokszorosító technológiát - szabadalmaztatott célzott befogási szekvenciákat (Target Capture Sequences – TACs) - használ. A kromoszómák célzott régiói sokszorosítást követően, saját fejlesztésű genomikai és bioinformatikai technológia segítségével, rendkívül nagy olvasási mélységgel kerülnek elemzésre. A célzott megközelítés révén elkerülhetőek a kópiaszám variánsok (CNV), az ismétlődő DNS elemek, és komplex genomikai szerkezetek. Az informatív lókuszok használata lehetővé teszi a magzati szabad DNS és az anyai szabad DNS megkülönböztetését és a magzati frakció pontos kiszámítását, míg a fragmentméret analízis csökkenti a mért adatok varianciáját, növelve a normál és a kóros minták közötti statisztikai különbséget. A VERACITY által alkalmazott technológiai újdonságok növelik a teszt specificitását és szenzitivitását, nagyon magas pontosságot és megbízhatóságot eredményezve.

A VERACITY által alkalmazott célzott megközelítés lehetőséget ad a magzati számbeli kromoszóma rendellenességek kimutatása mellett a mikrodeléciók és pontmutációk kimutatására is, rendkívül magas szenzitivitással és specificitással.

Az anyai sejt kontamináció interferáló hatása invazív prenatális molekuláris genetikai tesztelés során

Koczok Katalin, Gombos Éva, Madar László,
Török Olga, Balogh István

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék,
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Debrecen*

Invazív beavatkozással nyert magzati minták esetén minden esetben számolni kell anyai sejt kontamináció (maternal cell contamination, MCC) jelenlétével, mely befolyásolhatja, meghamisíthatja a prenatális genetikai tesztek eredményét. Munkánk során három molekuláris genetikai teszt MCC-re való érzékenységének meghatározását végeztük el.

Az MCC szimulálása során normál (vad) genotípusú DNS mintához („magzati”) 1%, 5%, 10%, 20%, 30% és 40%-ban különböző mutációkra nézve heterozigóta („anyai”) DNS mintát kevertünk. A szignifikáns (=magzati genotipizálási hibát okozó) MCC érték meghatározását Sanger DNS szekvenálás, multiplex ligáció-dependens próba amplifikáció (MLPA) és egy újgenerációs szekvenálási módszer esetén végeztük el.

Sanger DNS szekvenálás esetén a módszer detektálási szenzitivitása a vizsgált mutációtól függően 5-30%-nak adódott. Az MLPA esetén $\geq 40\%$ MCC okozott „diagnosztikai” bizonytalanságot. A piroszekvenálás igen érzékenynek bizonyult, 1% MCC kimutatása is lehetséges volt.

Összefoglalva, a Sanger DNS szekvenálás szenzitivitása variábilis volt, míg az MLPA teszt esetén csak igen nagy mértékű anyai kontamináció mutatkozott szignifikánsnak.

Ugyan a piroszekvenálás MCC jelenlétére igen érzékenynek bizonyult, a módszer előnye, hogy kvantitatív, így párhuzamosan meghatározott MCC érték mellett az allél-arányok pontos meghatározása az eredmények interpretációját segítheti.

A különböző módszerek esetén eltérő szignifikáns MCC ismerete elősegítheti a helyes prenatális diagnózist anyai DNS kontamináció jelenléte esetén is és az ismételt mintavétel az esetek nagy részében elkerülhető.

Az anyai microcimerismus

Klujber Valéria, Tobiás Bálint, Szőke Sarolta,
Balla Bernadett, Kövesdi Andrea, Árvai Kristóf, Kocsi-Deák Barbara,
Lakatos Péter, Kósa János

*PentaCore Laboratórium, Budapest, Semmelweis Egyetem, I. sz.
Belgyógyászati Klinika, Budapest*

A noninvazív tesztek kapcsán vált szélesebb körben ismertté, hogy a női szervezetben a korábban átélt terhességekből magzati sejtek maradnak életben és szaporodnak, kimérává alakítva valamennyi megfogant nőt. A sejteket kimutatták az agyban, a bőrben, a timuszban, a pajzsmirigyben, az emlőben, a szívben, a csontvelőben, szinte valamennyi női szervben.

Később az is ismertté vált, hogy a magzati sejtek a következő terhességek kapcsán a testvérbe is bekerülhetnek.

Ellenkező irányú vándorlás is lehetséges, vagyis az anyai sejtek is kimutathatók a magzatokban, illetve a megszületett gyermekekben, sőt, az unokákban is.

Hogy ennek a vertikális és horizontális (generációk közötti és generáción belüli) sejtes kapcsolatnak mi lehet a szerepe vagy a jelentősége, az egyelőre vizsgálódás tárgya. A téma egészen új és érdekes kérdéseket vet fel. Ezek irodalmi áttekintésére vállalkoznak a szerzők.

A Panorama® az egyetlen, SNP szekvenáláson alapuló NIPT Magyarországi eredmények bemutatása

Tobiás Bálint, Készné Fodor Lili, Szőke Sarolta, Molnár Gábor,
Balla Bernadett, Klujber Valéria, Kövesdi Andrea, Árvai Kristóf,
Kocsi-Deák Barbara, Lakatos Péter, Kósa János

*PentaCore Laboratórium, Budapest, Semmelweis Egyetem, I. sz.
Belgyógyászati Klinika, Budapest*

A nem-invazív prenatalális szűrőtesztek (NIPT-ek) már a terhesgondozás szerves részét képezik. A magzati szabad DNS-ek SNP (*single nucleotide polymorphism* = *egy pontos nukleotid mutáció*) alapú meghatározása képviseli a NIP tesztek legújabb generációját, amely mind specificitásában, mind szenzitivitásában megelőzi a masszív parallel szekvenáláson (MPS) alapuló teszteket, pozitív prediktív értéke pedig kétszer magasabb a többi ún. counting (*számláláson alapuló*) tesztnél. Magyarországon 2015. májusától érhető el a Panorama NIP szűrőteszt. A közel százezer utánkövetett amerikai páciens bevonásával készült publikációk adatait vetjük össze az első 1500 hazai Panorama teszt eredményével olyan tekintetben, mint a beküldés indoka, életkori megoszlás, valós PPV, NPV értékek, amelyeket eddig hazánkban nem publikáltak.

A NIPT-ek jelenleg még második vagy harmadik vonalbeli szűrőtesztek a gyakorlatban, bár a szenzitivitásuk és specificitásuk is meghaladja a 99%-ot. Nemzetközi irodalomban fellelhető adatok alapján ilyen technológia esetén a 21-es és 18-as triszómiák kombinált pozitív prediktív értéke 96,8%, szemben a MPS-on alapuló tesztek 43,8%-val. Továbbá, az MPS-on alapuló régebbi NIP tesztekhez képest a Panorama® teszt alacsonyabb fals-pozitív (0,21% vs. 0,03%) és fals-negatív (1,5% vs. 0,67%) rátával rendelkezik. Ezenfelül az SNP-n alapuló technológiának köszönhetően azonosíthatóvá válik a magzati triploidia, a vanishing twin, az anyai mozaicizmus és a magzat neme, valamint jelentősen lecsökkent a „no call” rate. A szűrőteszt extrém magas szenzitivitási (>99%) és specificitási (>99,9%) értéke is a technológiából adódik. A legfrissebb hazai adatok kiértékelése folyamatban van, amelyeket a konferencia keretein belül tervezünk bemutatni.

A NIP tesztek mellett elengedhetetlen az ultrahangos vizsgálat és a várandósgondozás egyéb, rendeletben rögzített elemei. Fontos szem előtt tartani, hogy ezek a vizsgálatok szűrővizsgálatok, melyek magas kockázatú eredményeit diagnosztikus tesztekkel lehet és kell megerősíteni, vagy kizárni. Emellett az egységes szakmai konszenzus meghozatala is szükségessé vált a NIPT-ek helyének megtalálására a hazai várandósgondozásban.

Kettős transzlokációt hordozó gravida terhessége

Buczkó Zsuzsanna, Ujfalusi Anikó, Zsupán Ildikó, Tóth Anikó,
Szabolcsiné Burai Ildikó, Orosz Gergő, Török Olga

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Laboratóriumi Medicina Intézet,
Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen*

A 36 éves, negyedszer terhes gravida előzményében szereplő 3 elhalt terhessége és több sikertelen beültetés (IUI, IVF) után a 2 évvel korábban történt kromoszóma vizsgálat a partnerénél 46, XY, nála 46, XX t(1;3) (p22, q29), t(8;10) (q21, q26) karyotípust igazolt. A kettős kiegyensúlyozott transzlokáció egyértelműen magyarázta az előzményi történéseket, ezért az IVF program folytatását javasoltuk oocyta donációval. Két további sikertelen, donor petesejttel végzett IVF történt, a bemutatásra kerülő utolsó terhessége spontán fogant.

A 12. heti UH szűrés eredménye alapján felajánlottuk a terhesség befejezésének lehetőségét a kromoszóma vizsgálat eredményétől függetlenül, de a gravida a döntést az eredmény birtokában szeretne volna meghozni. CVS-t végeztünk és meglepetésre a direkt és a hosszú idejű tenyésztésből végzett kromoszóma vizsgálat nem igazolt kiegyensúlyozott transzlokációt (46, XX). Esetleges lepényi mozaikosság, UPD lehetősége miatt magzatvízből is indokoltnak tartottuk a vizsgálat elvégzését.

A 15. heti UH során NT: 8,2 mm, szabálytalan kisagy, echogén tüdő és bélátmetasztetek, VSD, pericardiális folyadékgyülem volt látható, az amniocentesis eredménye 46, XX. A 17. héten történt UH (Dandy-Walker malformáció, szűk magzati mellkas, hyperechogén belek, VSD, pleurális folyadékgyülem) során megerősített súlyos multiplex malformációról történt ismételt felvilágosítás után a házaspár a terhesség befejezése mellett döntött.

A magzatvízsejtek in situ tenyésztéséből array-CGH (CytoScan 750K (Affymetrix)) módszerrel sikerült utólag igazolni (Dr. Ujfalusi Anikó) a háttérben álló kromoszóma-rendellenességet: duplikáció: 3-as kromoszóma 3q26.1- 3q28 régió normál 2 kópia helyett 3 kópiában van jelen. Ennek mérete 27,3 Mb, amely 155 gént tartalmaz.

Következtetés: esetünk is rávilágít a molekuláris genetikai vizsgálatok iránti igényre a prenatális diagnosztikában.

Hosszú nem-kódoló RNS-ek: szerepük a humán evolúcióban és betegségek pathogenezisében

Széll Márta

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai Intézet, Szeged*

A nagy átteresztőképességű technikáknak köszönhetően az elmúlt 10-15 évben hosszú nem-kódoló RNS-ek (long non-coding RNA =lncRNA) ezreit azonosították, ugyanakkor viszonylag kevés a száma azoknak az lncRNS-eknek, amelyek sejten belüli pontos feladata leírásra került. Ezen lncRNS-ek esetében ismertté vált azok szerkezete, a velük együttműködő nukleinsav és/vagy fehérjetermészetű partnerek, valamint számos esetben ezeknek a RNS molekuláknak a humán betegségek pathogenezisében betöltött szerepe. Az előadásban hosszú nem-kódoló egy csoportjának funkcionális vizsgálatairól lesz szó. Ezen belül a kutatócsoportunk által a pikkelysömör betegség pathogenezisének kutatása során azonosított PRINS hosszú nem-kódoló RNS-re fogok fókuszálni. A PRINS lncRNS kizárólag az emberszabásúak genomjában azonosítható. Eredményeink szerint a PRINS RNS molekula a nem léziós hám sejteinek immun- és stressz választ módosítja, elsősorban az IL-6 mRNS stabilitásának befolyásolásán keresztül, így járul hozzá a betegségben szenvedők hámjában a hámsejtek természetes immunválaszának szabályozásához.

A központi idegrendszeri érintettség kezelésének és monitorozásának új irányai gyermekkori akut limfoid leukémiában

Egyed Bálint, C. Sági Judit, Kutszegi Nóra, Rzeipel Andrea, Kovács Gábor, Erdélyi Dániel, Szalai Csaba, F. Semsei Ágnes

Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

A leggyakoribb gyermekkori malignitás, az akut limfoblasztos leukémia (ALL) szakellátásában kiemelt a terápiás válasz-készség folyamatos, minimális reziduális betegség (MRD) mérésén alapuló értékelése. A rossz prognózisú relapszusok megelőzéséhez szükséges a központi idegrendszeri (KIR) leukémia követése. A KIR-i relapszus a terápia sikertelenségének jelentős oka ALL-ben, aminek kimutatására a lumbálpunkciót követő liquor-citológiánál érzékenyebb módszer nincs. A beavatkozás alternatíváját kínálhatja egy noninvazív genetikai marker, ami specifikus a limfoblasztokra, kering a perifériás vérben és szintje párhuzamosan változik a KIR leukémiás terheltségével.

Célunk szabad mikroRNS (miR)-ek ill. extracelluláris vezikulákban előforduló miR-ek vizsgálatával kevésbé invazív diagnosztikai lehetőséget fejleszteni. ALL-es gyermekektől terápiájuk különböző időpontjaiban csontvelői ill. perifériás vérmintákból előállított vérelemezke-mentesített plazmát (pfp, platelet-free plasma), valamint liquort gyűjtöttünk. A mintákból miR-t izolálunk (miRNeasy Plasma/Serum Mini kit, Qiagen), majd cDNS-t hozunk létre (TaqMan™ Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit). TaqMan™ Low Density Array kártyán 47 miR szintjét mértük a betegek (n=30) mintáiban. Adatalemzésre, normalizálásra és lineáris modellillesztésre az R 3.4.3 programozási nyelvet használtuk (NormqPCR, ddCt és limma csomagok). Ezek alapján kiválasztott miR-ek expresszióját qPCR-rel (TaqMan™ Advanced miRNA Assays) további mintákon validáljuk.

Előzetes eredményink alapján a miR-128-3p és miR-181b-5p az idegrendszeri érintettségű ALL-es gyermekek liquorjában a kezelés 15. napján a diagnóziskorhoz képest jelentősen csökkent expressziót mutatott (fold change, FC=74,5 és FC=299,4; p=0,04 és p=0,004). A csökkenés perifériás vérből származó pfp-ben is kimutatható volt (33. nap vs. diagnózis napja: FC=16,2 és FC=14,7; p=0,008 és p=0,0009).

A gyermekkori ALL meningeális manifesztációjának új, miR-alapú noninvazív liquid-biopsziai markerének jelenlegi eredményeink alapján alkalmas jelölt lehet a miR-181b-5p és a miR-128-3p. A megfelelő validáláshoz további minták mérése folyamatban van.

Cirkuláló mikroRNS-ek mint potenciális biomarkerek gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában

Rzepiel Andrea, Kutszegi Nóra, Csányiné Sági Judit, Egyed Bálint, Wappler Abigél, Sándorné Vángor Mónika, Erdélyi Dániel

*Semmelweis Egyetem, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika,
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest*

Az akut limfoblasztos leukémia (ALL) a leggyakoribb gyermekkori malignitás. Hazánkban évente körülbelül 60 új esetet diagnosztizálnak. A mikroRNS-ek megváltozott expressziójával számos betegségben foglalkoznak, habár a szerepük még nem teljesen ismert, különösen nem gyermekkori ALL-ben. Kutatásunk során gyermekkori ALL-ben vizsgáltuk a mikroRNS mintázatot csontvelői és perifériás vérmintákban.

Trombocita-mentesített csontvelő és perifériás vérplazma mintákat vizsgáltunk, melyek 16 újonnan diagnosztizált ALL-es, 5 recidivált ALL-es és 10 egészséges kontroll gyermektől származtak. Az RNS izolálásra a Qiagen miRNeasy serum/plasma kittel használtuk. A 46 kandidáns mikroRNS kvantifikálását Custom TaqMan Advanced Low Density miRNA Array Card-al végeztük. Az eredmények kiértékelése a Thermo Fischer Cloud programjával történt.

Az általunk vizsgált előre kiválasztott 46 mikroRNS-ből 19 mikroRNS expressziója tért el szignifikánsan ($p < 0,5$) az ALL-es gyermekek véreből nyert trombocita-mentes plazma frakcióban összehasonlítva egészséges kontroll mintákkal. A miR-128-3p, miR-181b-5p és a miR-222-3p bizonyult a legnagyobb mértékben eltérő expressziójú mikroRNS-nek az ALL-es és recidivált ALL-es gyermekek és egészséges kontrollok trombocita-mentes perifériás vérplazmájában. Irodalmi adatok alapján a miR-128 és a miR-181 család tagjai szerepet játszanak a normális limfopoezisben. A tumorszupresszor TP53 számos mikroRNS targete, így a miR-222-é is, amely lehetséges, hogy szerepet játszik a leukémia kialakulásában.

Tehát előzetes eredményeink alapján feltételezhető, hogy a cirkuláló mikroRNS-ek biomarkerként is szolgálhatnak gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában.

MiRNS-expresszió vizsgálata blastemás Wilms-tumorban

Buglyó Gergely, Magyar Zsófia, Romicsné Görbe Éva, Bánusz Rita,
Csóka Monika, Micsik Tamás, Berki Zsanett, Varga Péter, Sági Zoltán,
Nagy Bálint

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Humángenetikai Tanszék, Debrecen,
Semmelweis Egyetem, I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika,
II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika,
I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest*

A Wilms-tumor a leggyakoribb rosszindulatú urogenitális daganat tíz éven aluli gyermekekben. A hisztológiát Európában a SIOP protokoll szerint a preoperatív kemoterápiát követően értékelik, sebészi mintából: a blastema jelenléte rossz prognosztikai jel. A regresszív és a blastemás tumorok közötti molekuláris különbségek (pl. miRNS-profil) tanulmányozása segíthet feltárni a daganatok kemoterápiás válaszkészségéért felelős tényezőket. A formalinnal fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetminták ilyen irányú felhasználásáról még nem született közlemény Wilms-tumorban, ezért ennek vizsgálatát is célul tűztük ki.

Betegenként két (egy tumoros és egy tumormentes) FFPE mintából izoláltunk miRNS-t, majd reverz transzkripció segítségével cDNS-t készítettünk. Az első beteg mintáiból PCR Array segítségével vizsgáltuk a miRNS-ek expresszóját, majd a kiválasztott négy miRNS-t hét további beteg mintában tanulmányoztuk egyedi qRT-PCR primerek segítségével.

Az FFPE mintákból kapott expressziós eredmények jól összevethetőek voltak az irodalomban hozzáférhető, friss fagyasztott szövetmintákból kapott adatokkal. A miR-184 jelentősebb downregulációt mutatott, mint azt az irodalmi adatok alapján vártuk: úgy gondoljuk, szerepe lehet a blastemás (és esetleg más szövettani típusú) daganatok egyes formáiban. A miR-203a csökkent expressziójáról mi számolunk be először. Korábbi közlemények alapján feltételezhető, hogy a miR-203a fontosabb célpontjai között szerepel az E2F3 transzkripció faktor, melynek regulációs zavara régóta ismert Wilms-tumorban.

Akadnak olyan közlemények, amelyek a miRNS-izolálás sikeréről számolnak be FFPE mintákból a legkülönbözőbb betegségekben, és eredményeink alapján ez a Wilms-tumor esetében is igaznak tűnik. Úgy véljük, a patológiai raktárakban porosodó minták felhasználásával további értékes adatokkal

lehetne hozzájárulni a Wilms-tumorok miRNS-profilozásához, mely még korántsem tekinthető lezártnak. Azt is érdemes lenne megvizsgálni, hogy a Wilms-tumorokban leírt E2F3-overexpresszió okaként szerepelhet-e a miR-203a kiesése, ahogy előadásunkban felvetjük.

A *miR200a*, *miR200b* és *miR200c* biomarkerként való alkalmazásának lehetősége a petefészekrák diagnosztikájában

Szilágyi-Bónizs Melinda, Márton Éva, Lukács János, Soltész Beáta,
Janka Eszter, Penyige András, Póka Róbert, Nagy Bálint

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Humánagenetikai Tanszék,
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Bőrgyógyászati Klinika, Debrecen*

A petefészekrák az ötödik leggyakoribb, nők körében előforduló rákos megbetegedés, és a legnagyobb halálozással járó nőgyógyászati rendellenesség. A magas halálozásért főleg a késői diagnózis tehető felelőssé. Habár rendelkezésre áll néhány biomarker (CA125, HE4), ezeknek azonban ez idáig nem sikerült jelentős javulást hozni a diagnosztikában. A vérben szabadon előforduló miRNsek több rákos megbetegedés esetén megbízható biomarkereknek bizonyultak, azonban kevés az irodalmi adat ezen molekulák petefészekrákban való alkalmazhatóságáról.

Jelen munkánk során a *miR200a*, *miR200b*, *miR200c*, *miR205*, *miR483* és *let7f* expressziós szintjét monitoroztuk egészséges (n=30), petefészekrákban szenvedő (n=21) és jóindulatú tumorral rendelkező (n=14) betegek plazma mintáiban. Az expressziós szintek megállapítása qRT-PCR-rel történt.

A *miR200a*, *miR200b* és *miR200c* expressziós szintje magasabbnak bizonyult a betegek mintáiban, mint az egészséges egyénekében ($p < 0,001$). Ezen felül a *miR200a* expressziója magasabb szintet mutatott a rosszindulatú, mint a jóindulatú tumorral rendelkező betegek mintáiban ($p < 0,001$). Ugyanakkor nem detektáltunk szignifikáns különbséget a *miR205*, *miR483* és a *let7f* esetében. A ROC-AUC érték nagyobbtnak bizonyult a *miR200a* (0,875, 95%CI=0,76-0,99), mint a *miR200b* (0,85, 95%CI=0,72-0,98), vagy a *miR200c* (0,83, 95%CI=0,70-0,97) esetében. A *miR200b* és *miR200c* expressziós szintje között magas korreláció volt jellemző ($r_s = 0,858$; $p < 0,001$). A *miR200b* és *miR200c* továbbá számos közös targettel rendelkezik, ami nagyfokú interakcióra utal számos, a tumorképződéssel összefüggésbe hozható gén regulációjában. A *miR200*, illetve a CA125 és HE4 molekulákon alapuló vértesztek eredményei közötti egyetértés alacsonynak mondható a kapott Cohen kappá értékek alapján.

Eredményeink alapján a *miR200a*, *miR200b* és *miR200c* hatékony kiegészítő markerei lehetnek a jelenleg használt CA125 és HE4 biomarkereknek. A *miR200a* továbbá segítséget nyújthat a jövőben a jóindulatú tumorok rosszindulatúaktól való megkülönböztetésében.

A *miR141* és *miR429* petefészekrák diagnosztikájában való alkalmazhatóságának vizsgálata

Márton Éva, Lukács János, Szabó Réka, Soltész Beáta,
Janka Eszter, Penyige András, Póka Róbert, Nagy Bálint Bálint,
Szilágyi-Bónizs Melinda

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Humángenetikai Tanszék,
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Bőrgyógyászati Klinika, Debrecen*

A petefészekrák a legnagyobb halálozással járó nőgyógyászati rendellenesség. A rossz túlélési statisztikához hozzájárul a késői diagnózis, amelyet a specifikus tünetek hiánya nehezít. Egy gyors, megbízható vérteszt kidolgozása nagymértékben elősegítené a petefészekrák korai felismerését, ami a túlélési esélyek javulásához is hozzájárulna. A vérben szabadon előforduló miRNSek számos ráktípusban bizonyultak hatékony biomarkereknek. Korábbi vizsgálataink megerősítették, a *miR200* családba tartozó miRNSek petefészekrák diagnosztikájában való alkalmazhatóságának lehetőségét. Jelen munkánk során megvizsgáltuk további 2, a *miR200* családba tartozó miRNS diagnosztikai paramétereit.

Vizsgálataink során a *miR141* és *miR429* expressziós szintjét monitoroztuk petefészekrákban szenvedő (n=21) és egészséges egyének (n=30) plazma mintáiban. Az expressziós szintek meghatározása qRT-PCR-rel történt.

A *miR141* és a *miR429* expressziós szintje szignifikáns különbséget mutatott a betegek mintáiban ($p < 0,01$). A ROC-AUC érték a *miR141* (0,768, 95%CI=0,604-0,932) esetében némileg magasabbnak mutatkozott, mint a *miR429* esetében (0,76, 95%CI=0,61-0,911). A szenzitivitás és a negatív prediktív értékek magasabbak voltak a *miR429*-nél (76,19%; 80%), mint a *miR141*-nél (66,67%; 78,13%). A specificitás és a pozitív prediktív érték azonban a *miR141* esetében volt magasabb (83,33%; 73,68%), mint a *miR429*-nél (66,67%; 61,54%). A diagnosztikai pontosság a *miR141* esetében mutatkozott magasabbnak, mely 76,47%-nak adódott szemben a *miR429*-nél tapasztalt 70,59%-al. A két miRNS expressziós szintje között pozitív korreláció volt megfigyelhető, azonban ez alacsonynak bizonyult ($r_s = 0,294$; $p < 0,034$).

Eredményeink alapján a *miR141* és *miR429* hatékony biomarkerek lehetnek a jövőben a petefészekrák diagnosztikájában.

**Az örökletes emlő- és petefészekrák hátterében álló
BRCA1 és BRCA2 génmutációk eloszlása – hazai, EMQN minősített
eredmények alapján**

Balla Bernadett, Árvai Kristóf, Kocsis-Deák Barbara, Tobiás Bálint,
Klujber Valéria, Kövesdi Andrea, Kósa János, Lakatos Péter

*PentaCore Laboratórium, Budapest, Semmelweis Egyetem,
I. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest*

Irodalmi adatokból ismert, hogy a BRCA génmutációk földrajzi régiókra és etnikai csoportokra jellemző populációs mintázatot mutatnak. Korábban Közép-Kelet Európában, így Magyarországon is az emelkedett emlő- és petefészekrák rizikó okán szűrt betegek jelentős részében ötféle csírasedes alapító mutációt azonosítottak. Ezek a BRCA1 5382insC, 300T>G és 185delAG eltérései, melyek az összes BRCA1 mutáció több, mint 80%-át adják. Valamint a BRCA2 9326insA és 6174delT patogén variánsai, melyek a korábbi megfigyelések alapján a BRCA2 mutációk több, mint 50%-áért felelősek.

Vizsgálatunkban fokozott rizikójú, a szigorított NCCN kritériumainak megfelelő 151 fő újgenerációs BRCA1 és BRCA2 génszekvenálását végeztük el Ion Torrent S5 készüléken. A perifériás vérből izolált genomi DNS-t saját tervezésű, EMQN minősített génpanelünkön teszteltük. A szekvenálás során a BRCA1 és BRCA2 gének kódoló szakaszainak 100%-át leolvastuk, átlagosan 300-szoros amplitikon lefedettséggel. A leírt eltéréseket minden esetben Sanger módszerrel validáltuk.

A BRCA1/2 eltérést hordozó 102 páciensben a klasszifikációt követően 77 patogén variánst találtunk, melyek mindössze 39%-a sorolható az alapító mutációk közé. A leggyakoribb a BRCA1 300T>G transzverziója volt, 13 esetben. A BRCA2 9326insA variánsa egyáltalán nem fordult elő a mintáinkban. A kimutatott 47 nem alapító mutáció megoszlása a következő volt: 8 missense és 15 ins/del a BRCA1 génben, valamint 8 missense és 16 ins/del a BRCA2 génben. Az analízisek során 11 új, ez idáig genomikai adatbázisokban nem szerepelő klinikailag releváns mutációt dokumentáltunk. A patogén variánsok mellett összesen 25, aminosav cserével járó VUS eltérést is leírtunk. A vizsgálati csoportból 49 fő esetén nem detektáltunk BRCA1/2 génhibát. Limitációként meg kell említenünk, hogy a BRCA gének nagy deléció/inszerció státuszát ellenőriztük, azonban a módszer erre vonatkozóan nem diagnosztikus erejű.

A vizsgálatunkban interpretált patogén BRCA1 variánsok 56%-a tartozik az alapító mutációk csoportjába, míg a BRCA2 gén esetén csak egy gyakori

mutációt azonosítottunk. Eredményeink felvetik annak a gondolatnak a lehetőségét, hogy csak a genetikailag homogén populációk esetén érdemes lépcsős protokoll szerinti genetikai elemzést végezni. A jóval heterogénebb európai népességben megfontolandó a viszonylag gyorsan és költséghatékonyan elérhető kiterjedt teljes génszekvenálás alkalmazása a klinikai gyakorlatban.

Szomatikus BRCA mutációk vizsgálata új generációs szekvenálással high grade serosus ovárium tumorok formalin fixált, paraffinba ágyazott mintáiból

Csernák Erzsébet, Vereczkey Ildikó, Tóth Erika

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

HGS ovárium carcinómákban a BRCA1 és BRCA2 gének szomatikus és csírasedes mutációi a leggyakoribbak. Az újonnan bevezetésre került PARP inhibitor terápia a BRCA mutációt hordozó daganatok esetén a kettős letalitás elve alapján hatékony új kezelésnek bizonyult. Tekintettel a BRCA gének nagy méretére, a mutációk gyors és pontos diagnosztikus kimutatására legalkalmasabbak az új generációs szekvenálási módszerek (NGS) alkalmazása. Jelen munkában a kereskedelmi forgalomban kapható amplikon alapú Multiplicom BRCA MASTR Plus CE akkreditált kitjét használtuk, és megnéztük alkalmazhatóságát formalin fixált paraffinba ágyazott 54 tumor mintán. Patogén mutációt az esetek 35%-ban (19/54) tudtunk azonosítani: 13 a BRCA1 és 6 a BRCA2 génben fordult elő. Ezek közül 15 klinikai adatbázisban szereplő patogén mutáció, 3 esetben ismeretlen hatású valószínűsíthetően patogén variáns, illetve egy esetben, adatbázisban nem szereplő ismeretlen patogén mutáció volt kimutatható. Az elváltozásokat 5% variáns allél frekvencia érzékenységgel tudtuk megbízhatóan detektálni, amely alkalmassá teszi a módszert a szomatikus mutációk szűrésére. A formalin fixált patológiai minták közül 3 esetben nem volt megfelelő az anyag minősége, nagy százalékban fordultak elő formalin indukálta mutációk és target régió lefedettség probléma, ezért FFPE minták esetén nélkülözhetetlen ún. szekvenálhatósági kritériumok beállítása a szűrési vizsgálatok megkezdése előtt.

Összességében, az általunk használt NGS módszer hatékonynak bizonyult a szomatikus BRCA mutációk szűrésére paraffinos minták esetén, amely tovább bővíthető ugyancsak ebben a hibajavító mechanizmusban szerepet játszó kulcsgének szűrésére. Diagnosztikus szempontból kétségtávolan nagy kihívást jelent az ismeretlen hatású variánsok értelmezése, amelyben segítséget nyújthat patogenitási modellek alkalmazása a betegek hatékonyabb klinikai kezelésének eléréséhez.

Mitokondriális DNS kópiaszámának detektálása petefészekrákos betegek vérplazmájában

Keserű Judit, Soltész Beáta, Lukács János,
Póka Róbert, Nagy Bálint

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Humánagenetikai Tanszék,
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Debrecen*

A mitokondriumok az energiatermelés, sejtosztódás és apoptózis folyamatának fontos organellumai. Kópiaszám-variációik összefüggést mutatnak számos patológiás jelenséggel. Feltételezték, hogy a daganatok kialakulásában és fejlődésében is szerepet játszhatnak, ezért mértük meg és hasonlítottuk össze petefészekrákos betegek vérplazmájában mért mtDNS kópiaszámát egészséges személyekével.

24 egészséges kontroll személyt (átlagos életkor $54,00 \pm 14,57$ év) és 24 petefészekrákos beteget (átlagos életkor $61,33 \pm 12,72$ év) vizsgáltunk. A vért EDTA tartalmú csövekbe vettük le, és a plazmát centrifugálással szeparáltuk. A mtDNS kópiaszámokat Human Mitochondrial DNA (mtDNA) Monitoring Primer Set kittel (Takara, Japán) határoztuk meg valós idejű (real-time) PCR-rel.

A mtDNS kópiaszám $48 \pm 17,34$ volt az egészséges kontrollcsoportban. A petefészekrákos betegeket a FIGO szerinti osztályokba soroltuk, a kópiaszámok a következők voltak: FIGO I. $32 \pm 8,38$ (korai stádiumú betegek), FIGO III. $33 \pm 5,66$ és FIGO IV $42 \pm 18,87$ (késői stádiumú betegek). Nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a vérplazma sejtmentes mtDNS kópiaszámokban a korai és késői stádiumú betegek vagy a kontroll csoport és a késői stádiumú betegek csoportja között ($p=0.3740$ illetve $p=0.1084$), de szignifikánsnak tekinthető a különbség a kontroll csoport és a korai stádiumú betegek csoportja esetén ($p=0.0290$).

Meghatároztuk a sejtmentes mtDNS kópiaszámot petefészekrákos és egészséges személyek vérplazmájában, és szignifikáns különbséget találtunk a kontroll csoport és a korai stádiumú betegek csoportjának eredményei között. További terveink között szerepel a vizsgálat kiterjesztése több betegre, illetve exoszómákban megtalálható mtDNS kópiaszámának meghatározása is.

A HLA-DRB1*07:01–HLA-DQA1*02:01–HLA-DQB1*02:02 haplotípus összefüggése az aszparagináz hiperszenzitivitással

Nóra Kutszegi*, Xiaoqing Yang*, Gézsi András, Schermann Géza, Erdélyi Dániel, Semsei Ágnes, Gábor Krisztina Mita, Sági Judit, Kovács Gábor, Falus András, Hongyun Zhang, Szalai Csaba

Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest, BGI-Shenzhen, Shenzhen, Kína, Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermek-Egészségügyi Központ, Szeged, BGI Clinical Laboratory, Shenzhen, Kína, Heim Pál Gyermekkórház, Központi Laboratórium, Budapest

**megosztott első szerzők*

A hiperszenzitivitás a gyermekkori akut limfoblasztos leukémiás (ALL-es) betegek körében használt natív *E. coli* aszparagináz leggyakoribb dóziskorlátozó mellékhatása. Célunk magyarországi betegek bevonásával az aszparagináz hiperszenzitivitás genetikai hátterének vizsgálata volt.

A HLA II. régió aszparagináz hiperszenzitivitásban betöltött szerepét 359 gyermekkori ALL-es beteg bevonásával vizsgáltuk. A *HLA-DRB1* és *HLA-DQB1* lókuszok nagy felbontású tipizálása újgenerációs szekvenálás segítségével történt.

A betegek körében 35 *HLA-DRB1* és 19 *HLA-DQB1* allélt azonosítottunk. A *HLA-DRB1**07:01 és *HLA-DQB1**02:02 allélt hordozó betegeknek szignifikánsan nagyobb volt a kockázatuk az aszparagináz hiperszenzitivitás kialakulására [($p=4,56 \times 10^{-5}$; OR=2,86 (1,73-4,75), valamint $p=1,85 \times 10^{-4}$; OR=2,99 (1,68-5,31)]. Haplotípus-rekonstrukciót és a *HLA-DQA1* bevonását követően a *HLA-DRB1**07:01–*HLA-DQA1**02:01–*HLA-DQB1**02:02 haplotípust hordozó betegek fokozott kockázatát azonosítottuk [($n=257$, $p=1,22 \times 10^{-5}$; OR=5,00 (2,43-10,29)].

A kiterjesztett haplotípust hordozó betegek esetében megfontolandó lehet más aszparagináz készítmény alkalmazása első vonalbeli szerként. Eredményeink hozzájárulhatnak a kezelés következtében kialakuló mellékhatások csökkentéséhez.

NGS alapú diagnosztikai módszer a differenciált pajzsmirigy rákos elváltozások kimutatására.

Lakatos Péter, Tobiás Bálint, Kocsis-Deák Barbara, Árvai Kristóf,
Balla Bernadett, Horányi János, Járay Balázs, Székely Eszter, Székely Tamás,
Kövesdi Andrea, Takács István, Kósa János Pál

*Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, I. sz. Sebészeti Klinika,
II. sz. Patológiai Intézet, Budapest, PentaCore Laboratórium, Budapest*

Az újonnan diagnosztizált pajzsmirigyrákok száma világszerte növekszik, hazánkban a leggyakrabban előforduló endokrin tumor. Az egyre finomodó diagnosztikai eljárásoknak köszönhetően hazánkban a lakosság kb. 30-50%-ánál lelhető fel pajzsmirigyben göbös elváltozás. A klinikai gyakorlatban alkalmazott „arany standard” eljárás, a vékonytű biopszia és citológia kb. 10-40%-ban bizonytalan eredményt ad. Ezért szükségessé vált egy célzott, korai felismerést lehetővé tevő vizsgálómódszer bevezetése. Jelen munkánkban olyan új generációs szekvenáló (NGS) módszeren alapuló géndiagnosztikai panelt dolgoztunk ki, amely egyszerre alkalmas számos pajzsmirigyrák kialakulásában szerepet játszó gén vizsgálatára. Ezek mutációs státusza előre jelezheti a pajzsmirigy tumor kialakulásának kockázatát, segítve ezzel a bizonytalan citológiai eredményű göbök diagnosztikáját. Az általunk tervezett multiplex PCR alapú hot-spot panel 23 onkogént, és azon belül 589 ismert mutációt tartalmaz. Az NGS szekvenálás Ion Torrent PGM rendszer segítségével történt. Összesen 67 darab pajzsmirigyszöveten elvégezett vizsgálat esetében a kapott adatokat bioinformatikai, majd statisztikai módszerekkel értékeltük. A papilláris pajzsmirigyrák (PTC) mintáinkban leggyakrabban előforduló mutációk a BRAF p.Val600Glu, APC frameshift mutációk, TSHR p.Phe458Ser, p.Tyr466Phe és DICER1 p.Arg1725Gln voltak. Az általunk vizsgált mutációknál az NGS szekvenálásban legalább 10x-es lefedettség mellett, minimum 5%-os allélgyakoriságot detektáltunk. A módszer szenzitivitása a malignus daganat diagnosztizálásában 79%, specificitása 86%, pozitív prediktív értéke 89%, negatív prediktív értéke 75%. Többgénes vizsgálati megközelítésünk lehetővé teszi nagyszámú mutáció egyidejű elemzését, nagy pontossággal és érzékenységgel. Ezzel a kiterjesztett panellel képesek vagyunk hatékonyabban korai képet adni a pajzsmirigyszövet molekuláris hátteréről, és meghatározni a citológiailag bizonytalan dignitású hideg göbök malignitásának valószínűségét.

Újgenerációs szekvenálás alkalmazása mitokondriális genom vizsgálatához hypophysis adenomákban

Németh Kinga, Darvasi Ottó, Likó István, Szücs Nikolette,
Czirják Sándor, Reiniger Lilla, Szabó Borbála, Kurucz Petra Anna,
Krokker Lilla, Igaz Péter, Patócs Attila, Butz Henriett

*Semmelweis Egyetem, II. sz. Belgyógyászati Klinika,
I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet,
Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest,
MTA-SE, „Lendület” Örökletes Endokrin Daganatok Kutatócsoport, Budapest,
Országos Klinikai Idegtudományi Intézet, Budapest,
MTA-SE, Molekuláris Medicina Kutatócsoport, Budapest*

A mitokondrium működés és a mitokondriális genom eltéréseinek patogenetikai szerepe több daganatban bizonyított. A hypophysis adenomák bár jóindulatú elváltozások mégis jelentős morbiditást okoznak térfoglaló és a hormonrendszerre gyakorolt hatásuknak köszönhetően. Kialakulásukban eltérően más szolid daganatoktól a genomi DNS mutációknak nincs jelentős szerepe, de proteomikai vizsgálatok mitokondrium diszfunkcióra utaltak.

Célunk volt különböző hypophysis adenomák mitokondriális genom variánsainak vizsgálata újgenerációs szekvenálással.

Összesen 11 növekedési hormont (GH) termelő és 33 nem-funkcionáló (22 gondadotrop (GO) és 11 hormon-immunonegativ (HN)) adenoma szövetet vizsgáltunk. A könyvtárkészítéshez VariantPro™ Mitochondrion Panel kitet használtunk, a szekvenálás Illumina MiSeq készüléken történt. Referenciának a Revised Cambridge Reference Sequence alkalmaztuk. A heteroplazmia cut-off-ot 3%-ban határoztuk meg.

A hypophysis adenomákban 496 variánst azonosítottunk (mintánként átlagosan 35 variáns) és összességében alacsony heteroplazmia szint (átl. 7,22%) jellemezte ezeket a daganatokat. A legtöbb variánst hordozó minták magasabb proliferációs indexet mutattak. Nyolc olyan variánst (A11251G, T4216C, T16126C, C15452A, T14798C, A188G, A188G, T16093C) azonosítottunk, amelyek elkülönítették a különböző daganattípusokat. A T16189C variáns gyakrabban fordult elő a non-rekurrens adenomákban, míg a recidív daganatokban nem volt kimutatható. Két variánst Sanger szekvenálással is validáltunk a 44 szöveti valamint 10 perifériás vérmintából izolált DNS-ben. 100% konkordanciát találtunk mind az NGS és Sanger eredmények, mind a szövet és vérminták eredményei között.

Az NGS alapú VariantPro Panel megbízható módszernek bizonyult a hypophysis adenomák mitokondriális genom és heteroplazmia vizsgálatában. A 496 variánsból 414 új variáns. Több mitokondriális variáns egyidejű jelenléte hozzájárulhat az adenomagenezishez, azonban a T16189C variáns polimorf megjelenése a daganatok jóindulatú viselkedésével állhat összefüggésben.

Támogatás:

Dr. Butz Henriett: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal – NKFIH (OTKA PD 116093), Semmelweis Tudományos Innovációs Alap (STIA-KF-17), Magyar Tudományos Akadémia: Bolyai János Kutatási Ösztöndíj
Németh Kinga: Emberi Erőforrások Minisztériuma (EMMI), Nemzeti Tehetség Program (NTP) Egyéni Fejlesztési Ösztöndíj (NTP-EFÖ-P-15-0379)

CD24 mRNS expresszió meghatározása petefészekrákos szöveti mintákból

Soltész Beáta, Lukács János, Márton Éva, Szilágyi-Bónizs Melinda,
Penyige András, Póka Róbert, Nagy Bálint

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Humánagenetikai Tanszék,
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Debrecen*

A CD24 egy kis molekulású sejtfelszíni fehérje, amely alkalmas lehet független prognosztikus tumor markernek több csoport kutatási eredménye alapján. Petefészekrákos betegek szöveti mintáiból határoztuk meg a CD24 gén expresszióját.

A kutatómunkánk során 22 fő alacsonyán differenciált szerózus papilláris petefészekrákos és 6 fő petefészekrákban nem szenvedő személy szöveti mintáit használtuk fel, amelyeket a petefészkek műtéti eltávolítása során nyertünk. Az RNS izolálása szilika adszorpció módszerrel történt a szöveti mintákból, ezt követően cDNS-t szintetizáltunk, majd kvantitatív valósídejű PCR-t végeztünk primer-próba rendszerrel, és meghatároztuk a CD24 gén expresszióját. Az eredmények normalizálásához β -globint használtunk fel. Student-féle t-próbát végeztünk az adatok statisztikai kiértékeléséhez.

Lényeges különbséget találtunk [$1,1002 \pm 2,6227 \Delta Ct$ vs. $36,5764 \pm 75,0772$ ($p=0,03$)] a beteg (FIGO I, III és IV) és kontroll csoport CD24 mRNS expressziójában. Fehérje-fehérje kölcsönhatások között a LYN, a SELP, a FGR és a NPM1 fehérjékkel négy kölcsönhatást sikerült kimutatni. A miRTargetLink adatbázisa szerint számos miRNS van hatással a CD24 expressziójára, ezek közül a hsa-miR34a-5p és a hsa-miR-373-3p a legspecifikusabbak.

A petefészkek tumoros betegek szöveti mintáiban magasabb CD24 gén expressziót találtunk, amely a FIGO stádiummal is összefüggést mutatott. Hálózat kutatás során fehérje-fehérje és szabályozó miRNS kölcsönhatásokat is azonosítottunk, amelyek fontos szerepet játszanak a tumor kialakulásában és progressziójában.



iSeq 100 System

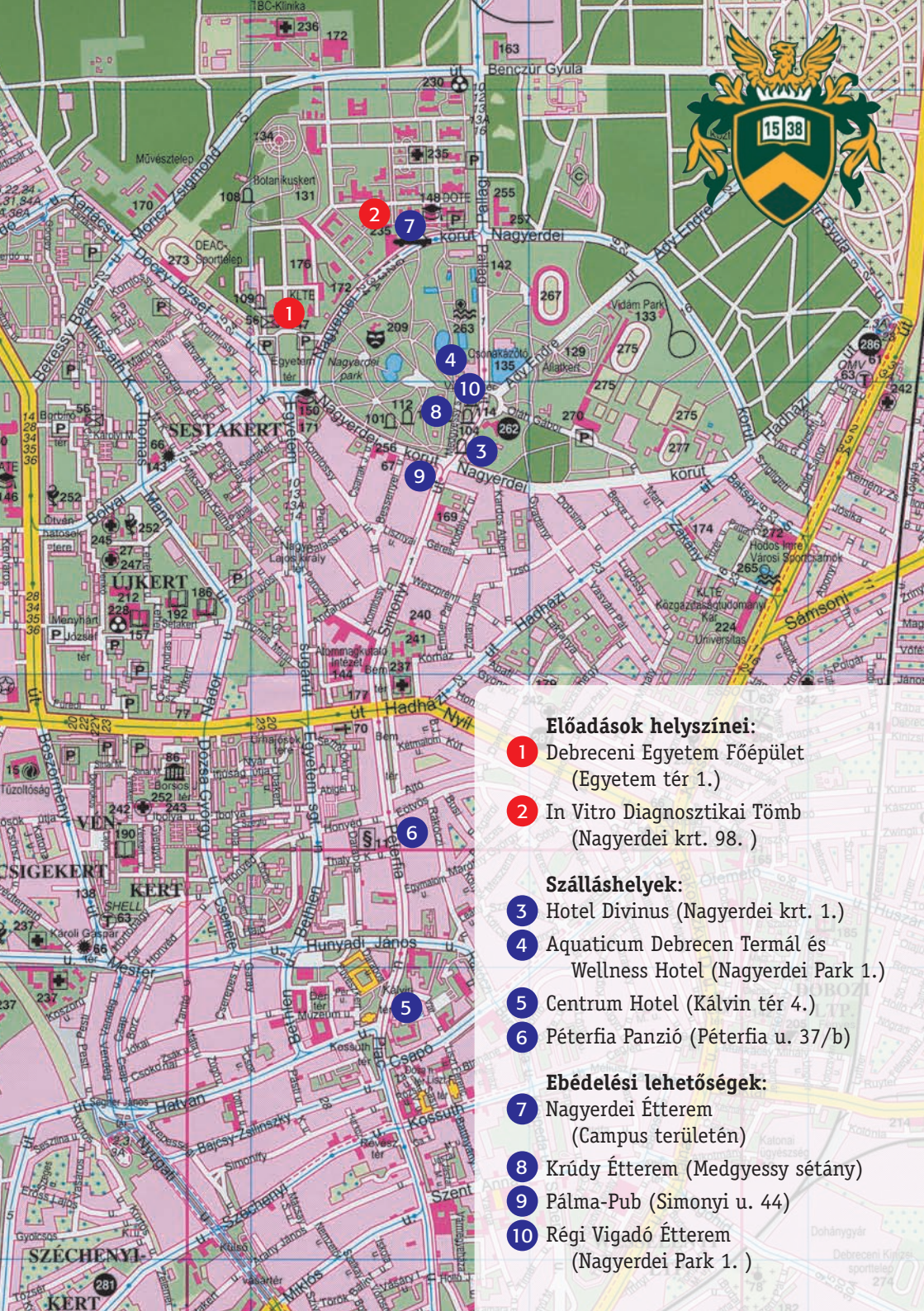


Your new lab partner

illumina

www.genetica.hu

imagine the NEXT



Előadások helyszínei:

- 1 Debreceni Egyetem Főépület (Egyetem tér 1.)
- 2 In Vitro Diagnosztikai Tömb (Nagyerdei krt. 98.)

Szálláshelyek:

- 3 Hotel Divinus (Nagyerdei krt. 1.)
- 4 Aquaticum Debrecen Termál és Wellness Hotel (Nagyerdei Park 1.)
- 5 Centrum Hotel (Kálvin tér 4.)
- 6 Péterfia Panzió (Péterfia u. 37/b)

Ebédelési lehetőségek:

- 7 Nagyerdei Étterem (Campus területén)
- 8 Krúdy Étterem (Medgyessy sétány)
- 9 Palma-Pub (Simonyi u. 44)
- 10 Régi Vigadó Étterem (Nagyerdei Park 1.)