

*Maródi László*

## **A molekuláris genetikai vizsgálatok jelentősége veleszületett immunhiány betegségeiben**

Az első veleszületett immunhiány betegséget, az X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemiát 1952-ben Ogden Bruton amerikai katonaeorvos ismerte fel, aki recidiváló, súlyos fertőzésben szenvedő fiúgyermekben a gammaglobulinok teljes hiányát észlelte a fehérje elektroforézis képen. Az első agammaglobulinaemiás beteg esetének leírását több évtizedes kutatómunka követte, amely több mint 200 primer immunhiány-betegség felismeréséhez vezetett.

Az elmúlt 15 évben a molekuláris genetikai diagnosztika fejlődésének köszönhetően több mint 150 primer immunhiány-betegség genetikai hátterét sikerült tisztázni. Az esetek döntő többségében a molekuláris genetikai vizsgálatok segítségével pontos diagnózis állítható fel, és új terápiás módszerként megjelent a génterápia is. A genotípus-fenotípus vizsgálatok és az állatkísérletes modellek révén az immunhiány-betegségek többségében tisztázható a betegség patomechanizmusa, és az érintett génekről átíródó fehérjék funkciója. A nagyléptékű fejlődés ellenére azonban mind a mai napig nem ismert, hogyan vezet, pl. a BTK vagy a WASP gén mutációja X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemia illetve Wiskott-Aldrich szindróma kialakulásához. A veleszületett immunhiány-betegségek diagnosztikájában és kezelésében elért eredmények a molekuláris medicina fejlődésének látványos bizonyítékai.

### **Immundeficienciák**

Immundefektusnak vagy immundeficienciának, immunhiányos állapotnak az immunrendszer csökkent, extrém esetben hiányzó működését nevezzük. A defektusok lehetnek primerek, amikor az immunitáshiány az immunrendszer öröklött rendellenességének következménye, amely különböző fertőzések, allergia, autoimmun és daganatos betegségek kialakulására hajlamosít. Immunhiányos állapotra utalhat a krónikus étvágytalanság, az emésztési és felszívódási zavar, az idült hasmenés, a gyakori hőemelkedés és láz, a szomatikus retardáció, a vérzékenység és a súlyos oltási reakció. Legjellemzőbb a visszatérő, súlyos lefolyású, terápiára rosszul reagáló, változó lokalizációjú, gyakran maradványtünetekkel gyógyuló fertőzések kialakulása. Különös figyelmet érdemelnek az oportu-

nista (ritkán előforduló kórokozók által okozott) recidiváló infekciók, az antibiotikum kezelés mellett is szokatlanul elhúzódó lefolyás, vagy az infekciók szövődményeinek szokatlan súlyossága. Az érintett családokban gyakran észlelhető a fertőzésekre való fogékonyság halmozott előfordulása, immundefektus, autoimmun betegség, allergiás hajlam, malignus megbetegedés vagy korai gyermekhalál.

Gyakorlati szempontból a veleszületett immunhiány-betegségek a következő csoportokba sorolhatók: 1. az első viszonylag nagy esetszámú csoportba az antitest deficienciák tartoznak, amelyek recidív alsó és felső légúti fertőzések kialakulására hajlamosítanak; 2. a T-sejt illetve a kombinált immundeficienciákra a szomatikus fejlődés elmaradása, visszatérő hasmenések és opportunista fertőzések jellemzők; 3. a fagocita sejt defektusokra a gennykeltő baktériumok és gombák által okozott nyálkahártya- és invazív fertőzések típusosak.

Immundefektusok	Primer immundefektusok*
<b>Primer immundeficiencia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ B-sejt-defektus (64,7%)</li> <li>→ T-sejt vagy kombinált immundeficiencia (20,2%)</li> <li>→ Phagocytasejt-defektus (8,7%)</li> <li>→ Komplementdefektus (3,6%)</li> <li>→ Egyéb (2,8%)</li> </ul>
<b>Másodlagos immundeficiencia</b>	
<b>Szerzett immundeficiencia</b>	
<b>Átmeneti immundeficiencia</b>	

\* *European Society for Immunodeficiency Regiszta adatai alapján*

### Molekuláris genetikai vizsgálatok primer immundefektusokban

A primer immunhiány-betegségek klinikailag heterogén kórképek. Az immundeficienciák egy része a típusos klinikai tünetek és a jellegzetes kórokozó spektrum alapján egyértelműen felismerhető. Az esetek nagyobb százalékában azonban a humorális és a celluláris immundeficienciák, valamint a komplement defektusok tünettanában átfedések mutatkoznak. Mindezek miatt a pontos diagnózis megállapításához a részletes anamnézis, a fertőzések etiológiájának, lefolyásának, típusának, lokalizációjának gondos elemzése, az ismételt elvégzett fizikális vizsgálat, a rutin laboratóriumi vizsgálatok, és az in vivo és in vitro immunológiai tesztek sokszor nem elegendők; az egyértelmű diagnózishoz genetikai vizsgálatra is szükség van.

Napjainkban az immundeficienciák molekuláris genetikai kutatásában robbanásszerű fejlődés észlelhető. Egy évtizede még alig néhány immundeficiencia gén volt ismert, napjainkban azonban egyre több immundeficiencia esetén tisztázható a háttérben álló génhiba. Az elmúlt évben 14 különböző, primer immunhiány-betegség genetikai hátterét sikerült tisztázni. A jelenleg ismert, több mint 150 immundeficiencia-gén felismerése hozzájárult a veleszületett és az adaptív immunrendszer fejlődésének és szabályozásának jobb megértéséhez is.

Az immunhiányos állapotok korai felismerésében – bár egy-egy betegség esetében alacsony incidenciájú megbetegedésről van szó – a genetikai szűrővizsgálatoknak óriási jelentősége van. A korai, biztos diagnózis lehetővé teszi a fertőzések kialakulásának megelőzését és korai adekvát immunterápiáját, a genetikai tanácsadást, a hordozóállapot kiszűrését, a prenatalis diagnózist. A PID-ben szenvedő betegek esetén a gén szintű diagnosztika a következők miatt nem nélkülözhető:

1. A molekuláris genetikai vizsgálatok megerősítik a feltételezett diagnózist, ami különösen akkor fontos, ha a laboratóriumi leletek és a klinikai kép a megszokottól eltérő.
2. A genetikai vizsgálatok segítségével fény derülhet az immunreguláció addig még ismeretlen részleteire, és tisztázható az immunhiányos betegség patomechanizmusa.
3. A PID által érintett családokban a terhesség alatti genetikai vizsgálatoknak óriási jelentősége van a családtervezésben.

A leggyakoribb primer immundefektus, a szelektív IgA hiány előfordulási gyakorisága 1:500. De legalább ilyen arányban az immunhiányos betegségek nem kerülnek felismerésre, vagy téves diagnózis születik. A becsült gyakoriság tehát 1:250-ra tehető. Ezen számadatok is megerősítik, hogy az ilyen betegekre különösen nagy figyelmet kell fordítanunk. Laboratóriumunkban 2003-ig döntően a humorális és a celluláris immunválasz felmérésére alkalmas funkcionális, immunkémiai és biokémiai módszereket alkalmaztunk. A korszerű diagnosztikai feltételek biztosítása szükségessé tették molekuláris genetikai vizsgálómódszerek beállítását is. Évekkel korábban megfogalmazódott az a szakmai igény, hogy Magyarországon legalább egy helyen létre kell hozni immundeficiencia molekuláris genetikai központot. A várakozást követően, 2003-ban tanszékünkön létrejött Molekuláris Genetikai Laboratórium tehát országos igényt elégít ki. A ritka, öröklődő primer immundeficienciában szenvedő betegek és családtagjaik számára laboratóriumunkban a prenatalis genetikai diagnosztika is hozzáférhető, így lehetőségünk van arra is, hogy a családtervezésnél felmerülő fontos kérdésekre választ adjunk.

Az esetek egy részében a genomikus DNS vizsgálata elegendő, hiszen ugyanaz a fenotípus nem egyszer különböző géndefektusok következménye lehet. Ugyanaz a génmutáció sokszor egy családon belül is teljesen eltérő fenotípusos

megjelenést eredményezi. Ezen genotípus-fenotípus megfigyelések további kutatásokra ösztönöznek, elsősorban a környezeti és más genetikai faktorok pontos szerepének tisztázására, és a gének szerkezete és funkciója közötti összefüggések pontosabb megismerésére.

### Összefoglalás és konklúzió

Az elmúlt évtizedben a molekuláris genetika területén robbanásszerű fejlődésnek lehettünk szemtanúi, amely számos korábban misztikusnak vélt immunhiánybetegség patomechanizmusának megértéséhez vezetett. A közelmúltban több primer immundeficiencia molekuláris genetikai alapjait sikerült tisztázni, így fény derült a rövid végtagú törpeség, a leukocytá adhéziós protein deficiencia és a fokozott radioszenzitivitással társuló súlyos kombinált immundefektus hátterére. Bár a klinikai szintű manifesztációkat nem minden esetben tudjuk egy jól meghatározott molekuláris defektushoz kötni, a klinikai immunológiai megfigyelések és az immunológiai alapkutatások molekuláris szintű eredményeinek folyamatos összevetése mindkét oldal számára gyümölcsöző lehet. A primer immundeficienciák hasznos modellként szolgálhatnak a jövő kutatásaiban az autoimmun vagy az allergiás immunpatomechanizmusú, multifaktoriális betegségek tanulmányozására is.

Ha a tünetek hátterében öröklődő betegség lehetősége is felmerül, a családi anamnézis mellett, a családfakészítésnek is az első diagnosztikus lépések között kell szerepelnie (1. ábra). Bár a legtöbb öröklött immundeficiencia genetikai szintű leírására csak a közelmúltban került sor, a családfák és a családtagok anamnézisének pontos elemzése az esetek többségében segít feltérképezni a korábbi generációk érintett családtagjait, akiknek a klinikai tünetei, kórlefolyása a betegével megegyező. A precíz adatgyűjtés, és a távoli rokonok felkutatása időigényes feladat és rendszerint több családlátogatást igényel. A családtagok korábbi zárójelentéseinek, orvosi dokumentációjának áttekintése nélkülözhetetlen a betegségek oknyomozásában.

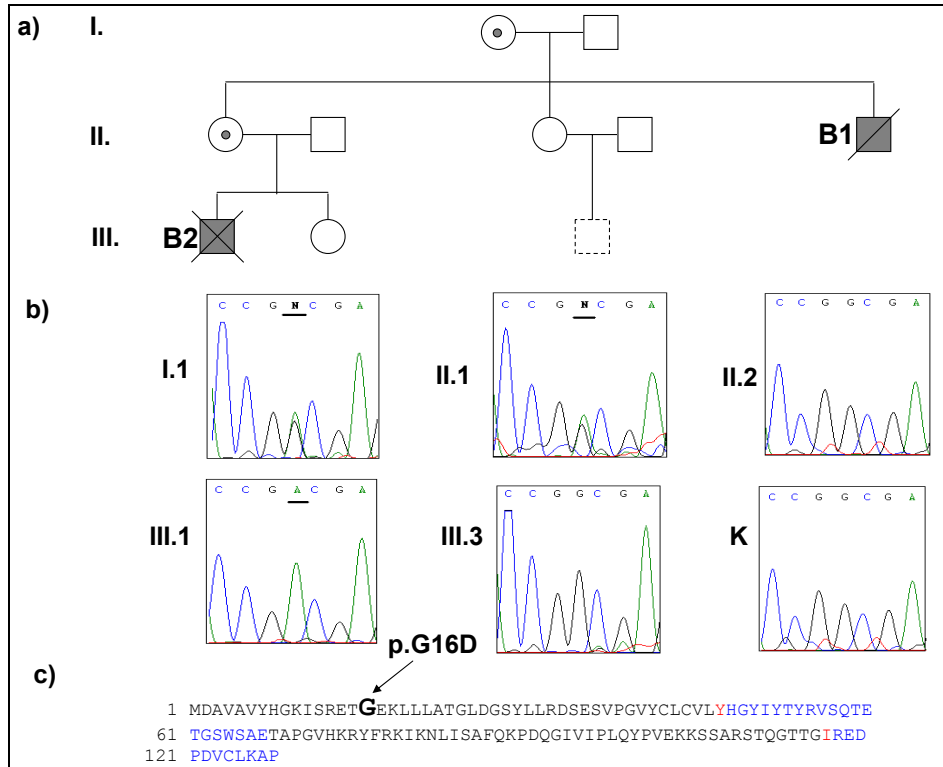
Az immunológiai alapkutatások és a genetikai szűrővizsgálati módszerek és műszerek fejlődése, az immunrendszer számos betegségének molekuláris szintű megértéséhez vezetett. Az immunbiológia területén egyre bővülő lehetőséget teremtett új terápiás eljárások bevezetésére, nemcsak az immundeficienciák, hanem különböző autoimmun-, gyulladásos-, illetve transzplantációhoz kapcsolódó betegségekben is. Az immundeficienciák molekuláris kutatása területén tapasztalható hatalmas fejlődés ellenére maradtak kihívások. Ezek egyike a mutáns gén korrekciója génmódosított őssejt terápiával. A primer immunhiány betegségekben, a génterápiás próbálkozások kezdeti eredményei biztatónak tűnnek, és remény van arra, hogy a génterápia hamarosan az első vonalbeli terápiás eljárások között szerepeljen.

## Appendix

### X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség: Családfa és esetismertetés

A kilenc éves fiúgyermeket (B1) nyolc hónapos korában kezelték először kórházban tüdőgyulladás és vérszegénység miatt. Kilenc éves koráig más betegsége nem volt; ekkor torokgyulladás, máj- és lépmeagnagyobbodás, nyirokcsomó duzzanat, légzési elégtelenség, sárgaság miatt igényelt kórházi felvételt. Tízórás ápolás után gyorsan progrediáló májelégtelenség, shock, agyi ödéma és beékelődés következtében exitált. Szérumában az anti-EBV (Epstein-Barr vírus) IgM titer emelkedett volt. A szövettani vizsgálatok a májban, a lépben és a tüdőben diffúz, atípusos lymphocytás és plazmasejtes infiltrációt igazoltak. A beteg unokaöccsének (B2) kórházi felvétele nyolc hónapos korában, kéthetes hurutos panaszok, láz, torokgyulladás, máj- és lépmeagnagyobbodás, kiütések és generalizált nyirokcsomó duzzanat miatt vált szükségessé. Gyors progressziót mutató májelégtelenség és légzési elégtelenség miatt gépi lélegeztetést igényelt, de az intenzív kezelés ellenére a felvételét követő 4. napon exitált. A szövettani vizsgálatok a májban, a csontvelőben és a központi idegrendszer területén diffúz, T- és plazmasejtes infiltrációt igazoltak. A lymphocyta marker vizsgálatok a nyirokcsomókban és a májban a CD8<sup>+</sup> T lymphocyták dominanciáját és intakt B-sejtes területeket mutattak.

A súlyos klinikai kép és a szövettani vizsgálatok eredménye alapján a *SH2D1A* gén mutációjának lehetősége merült fel. A betegek családtagjainak perifériás vérből genomikus DNS-t izoláltunk és az *SH2D1A* génmutáció vizsgálatát végeztük el. Először a B2 beteg édesanyját (II.1) és anyai nagymamáját (I.1) vizsgáltuk, akik az 1. exon, c.47G>A mutációjára nézve heterozigótának bizonyultak. Ugyanezt a mutációt a B2 beteg nyirokcsomó szövettani blokkjából izolált genomikus DNS-ben is igazoltuk. Bár a B1 beteg mutáció analízis vizsgálatára nem volt lehetőségünk, a klinikai kép, az X-kromoszómához kötött öröklődés és a szövettani eltérések alapján feltételeztük, hogy ő is az unokaöccsében igazolt mutációt hordozta. A család kivizsgálása közben a B2 beteg nagynénje (II.2) várandós lett és a magzati nem meghatározás fiú magzatot (III.3) igazolt. Az édesanya és a magzat a mutációra nézve vad típusúnak bizonyult. A SAP protein p.G16D aminosav cseréhez vezető c.47G>A mutációja XLP betegek között korábban még nem volt ismert, ezért a mutáns fehérje patogenetikai szerepének igazolására további vizsgálatokat végeztünk, amelyek igazolták, hogy az általunk talált mutáció a betegség genetikai oka volt.



1. ábra

X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben szenvedő beteg családfája és a család molekuláris genetikai vizsgálatának eredményei. *a)* Szürke négyzetek, fiú betegek fatális infekciós mononucleosissal; áthúzás, meghalt betegek; szaggatott négyzet, fiúmagzat; B, beteg. *b)* A genomális DNS szekvenálás eredményeit jelző elektroferogramokon a *SAP* gén 1. exonján a B2 (III.1) beteg esetén c.47G>A mutációt látunk és a vad típusú szekvenciát a kontrollnál (K); a mutáció helyét aláhúzással jelöltük. Az elektroferogramok az anyai nagymama (I.1) és az édesanya (II.1) esetén heterozigóta állapotot, az édesanya testvérében (II.2) és a fiúmagzatban (III.3) vad típust mutatnak. *c)* A *SAP* proteín aminosav szekvenciája (fekete-kék váltakozó színek, exonok; piros betű: átfedő aminosav). A mutáció helyét nyíllal jelöltük.\*

\* A szerző köszönetet mond munkatársainak (Erdős Melindának, Alapi Krisztinának, Török Olgának, Balogh Istvánnak, Tóth Beátának, Csorba Gabriellának, Csomor Juditnak és Sümegi Jánosnak), akik a tanulmány összeállításában segítségére voltak.