

Neurális vagy neuromuskuláris tünetekkel manifesztálódó
genetikai eltérések vizsgálata magyar népességmintákban és
az RPE65-gén mutációinak szerepe retina-disztrófiás
betegekben

PhD értekezés tézisei

Dr. Gyűrűs Péter

MTA-PTE Klinikai Genetikai Tanszéki Kutatócsoport
PTE, Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézet
2002.

Programvezető és témavezető:
Prof. Dr. Melegh Béla

Bevezetés

A humán populációgenetika célja különböző népcsoportok genetikai kapcsolatának és a genetikai variabilitás háttérében álló mechanizmusoknak a vizsgálata megfelelően választott genetikai markerek által. Az elmúlt évtizedek biotechnológiai áttörésének eredményeképpen a DNS vizsgálatán alapuló módszerek terjedtek el. A különböző lokuszokhoz társuló polimorfizmusok eloszlásának vizsgálata mellett egyes öröklődő betegségek genetikai háttérének (génmutációinak) populációk közti változása is érdekes adat, mind a népcsoportok közti genetikai kapcsolat, mind az eltérések/mutációk feltételezett eredetének vizsgálata szempontjából.

A biotechnológiai fejlődés következtében az öröklődő betegségek genetikai háttérének feltárása is felgyorsult ütemben zajlik. A fenotípus és genotípus közti összefüggések megállapítását, az öröklődő betegségek jelentős részét jellemző allélikus és nem-allélikus genetikai heterogenitás alaposan megnehezíti. Azonban a gének azonosítása és eltéréseik vizsgálata napjainkban különösen fontos, hiszen a kórokozó génmutációk és az öröklődő betegségek kapcsolatának megismerése részben a genetikai tanácsadás alapjául szolgál, illetve esetenként a terápia (génterápia, szövet-átültetés, gyógyszeres kezelés) lehetőségét is megteremti.

Célkitűzések

Az értekezés első három fejezetében a hazai népességből vett mintákon végzett populációgenetikai jellegű vizsgálatainkat három példán keresztül mutatom be.

1. Öt, bázishármas ismétlődések expanziója által okozott betegség lokuszán (DM, DRPLA, HD, SBMA és SCA-1) vizsgáltuk a mikroszatellita ismétlődések eloszlását. Az egyik célkitűzésünk a bázishármas ismétlődések eloszlásának meghatározása volt, tünetmentes hazai népméregmintában.
2. A Duchenne/Becker muszkuláris disztrófiában a disztrofin-gén delécióinak töréspontjai népcsoportonként eltérő eloszlást mutatnak. Vizsgálatainkban a disztrofin-gén delécióinak arányát és a töréspontok eloszlását kívántuk meghatározni a hazai Duchenne/Becker szindrómás betegekben.
3. A klasszikus galaktozémiát a galaktóz-1-foszfát uridil transferáz (GALT) enzimet kódoló gén mutációi okozzák. A kaukázusi népcsoportok galaktozémiás betegeiben a Q188R mutáció a leggyakoribb, amelynek következtében többnyire súlyos, szövőd-ményekkel társuló klinikai kép alakul ki. A GALT-gén további gyakori mutációja a mérsékelten csökkent enzim-aktivitású, ún. Duart-allélhez társuló N314D mutáció. Célunk a Q188R és az N314D mutációk gyakoriságának meghatározása volt, a hazai galaktozémiás betegekben.

Külföldi tanulmányutam során a hamburgi humángenetikai intézetben az ideghártya-elfajulások háttérében álló géneket, illetve azok eltéréseit vizsgáltuk. Az öröklődő retina-disztrófiákat összetett öröklésment, valamint nagyfokú genetikai heterogenitás jellemzi. Az érintett gének túlnyomó része a fotoreceptorokban, míg néhány újabban felfedezett gén elsősorban a retina pigmenthámjában expresszálódik. Az értekezés második részét képező vizsgálatainkban, célunk, a retina pigmenthámjára specifikus RPE65-gén mutációnak kimutása volt, korai, súlyos fokú ideghártya-elfajulásban szenvedő betegekben.

Eredmények

- A bázishármas ismétlődések eloszlását 5 neuromuskuláris manifesztációjú betegség lokuszán vizsgáltuk (HD, MD, SCA-1, SBMA, DRPLA). A HD és MD lokuszokon az allélek eloszlása nem tért el szignifikánsan a kontroll csoportoktól.
- Az SCA-1 lokuszon az allélek eloszlása mindkét kontroll csoporttól eltért, a rövidebb trinukleotid sorozatok irányába eltolódott.
- Az SBMA-allélek eloszlása a kaukázusi mintától szignifikánsan eltért, míg az ázsiai mintához viszonyítva statisztikailag különbség nem volt kimutatható.
- A magyar Duchenne/Becker izomdisztrófiás betegekben a disztrofin-gén deléció töréspontjai a nemzetközi adatokkal egyezően sajátos megoszlást mutattak, a töréspontok nagy része (77,6%) a gén 3'-végén, míg kisebb hányaduk az 5'-végen helyezkedett el.
- A magyar betegekben a disztrofin-gén 3'- régiójában a töréspontok eloszlását a 44., 50. és 52. intronok kombinációja jellemzi.
- Eredményeink felvetik a korábbi tanulmányokkal egyezően, a disztrofin-gén töréspontjainak populáció-specifikus eloszlását.
- A magyar galaktozémiás betegekben a GALT-gén Q188R mutációjának gyakorisága a nyugat-európai adatokhoz képest lényegesen alacsonyabb, valószínű, hogy a hazai populációban a kaukázusi rasszra nem jellemző mutáció(k) dominál(nak).

- A szomszédos országokban végzett hasonló vizsgálatokkal összehangban valószínűsíthetjük, hogy a GALT-gén Q188R mutációjának gyakorisága Európán belül nyugatról kelet felé haladva csökken.

Az RPE65-gén vizsgálatának eredményei alapján a következőket állapítom meg:

- A súlyos fokú, korai ideghártya-disztrófiák viszonylag gyakran az RPE65-gén mutációira (11,4%) vezethetők vissza.
- Az RPE65-gén ideghártya-elfajulással kapcsolatba hozható mutációi lehetnek aminosav-változással járó mutációk, kis deléciók, inszerciók és „splice site” mutációk.
- Az RPE65-gén különböző típusú mutációnak következtében kialakuló retina-degeneráció nagy fokban hasonló klinikai képet eredményez.
- A fentiek alapján feltételezhető, hogy az észlelt aminosav-cserével járó mutációk nagy mértékben károsítják az RPE65-fehérje működését, gyakorlatilag funkcióképtelen fehérje képződik. A patomechanizmus feltárásához az RPE65-fehérje működésének pontos megismerése és a funkcionális vizsgálmódszerek kialakítása szükséges.

A PCR-SSCP technikával a betegek egy részében csak az egyik allélen találtunk valószínűen biológiai jelentőséggel bíró szekvencia-eltéréseket, így feltételezhető, hogy az RPE65-gén egyenlőre pontosan nem ismert promoter régiójának mutációi, illetve nagy gén-deléciók is szerepet játszanak a retina-disztrófiákban.

Saját közlemények, absztraktok és előadások jegyzéke

Közlemények:

1. Horváth A., Kis A., Gyűrűs P., Melegh B.: A galaktozémiát okozó Q188R és N314D típusú mutációk kimutatása beszárított vércseppből. *Klin Kisérlet Lab Med* 1998; 25:21-23.
2. Herczegfalvi Á., Tóth G., Gyűrűs P., Endreffy E., Fodor F., Mechler F., László A., Raskó I., Melegh B.: Deletion patterns of dystrophin gene in Hungarian patients with Duchenne/Becker muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 1999. 9(8):552-4
3. Gyűrűs P., Molnár J., Melegh B., Tóth G., Morava É., Kosztolányi Gy., Méhes K.: Trinucleotide repeat polymorphism at five disease loci in mixed Hungarian population. *Am J Med Gen* 1999. 87(3): 245-250
4. Horváth A., Gyűrűs P., Kis A., László A., Schuler Á., Kosztolányi Gy., Melegh B. Distribution of Q188R and N314D mutations in the Hungarian galactosaemic population. *Hum Mutat* 2000. 16(1):91
5. Lorenz B., Gyűrűs P., Preising M., Bremser D., Gu S., Andrassi M., Gerth C., Gal A.: Early-onset severe rod-cone dystrophy in young children with RPE65 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000. 41(9):2735-42
6. Laudahn B. M., Gyűrűs P., Orth U., Gal A., Nienaber C. A.: Die indirekte Genotypanalyse als diagnostisches Verfahren beim Marfan-Syndrom. *Z Kardiol* 2000. 10: 939-948
7. Thompson D.A., Gyűrűs P., Fleischer L. L., Bingham E. L., McHenry C. L., Apfelstedt-Sylla E., Zrenner E., Lorenz B., Richards J. E., Jacobson S. G., Sieving P. A., Gal A.: Genetics and phenotypes of RPE65 mutations in inherited retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Dec;41(13):4293-9.

Folyóirat „supplement-jében“ megjelent abstractok

1. Tóth G., Gyűrűs P., Morava É., Kosztolányi Gy., Melegh B.: Trinucleotide repeat polymorphism at five disease loci in Hungarian population. Eur. J. Hum. Genet 1999. 7. P615. A149
2. Thompson D.A., Lorenz B., Gyűrűs P., Gao J., Hanna D.B., Andrassi M., Fleischer L., Sieving P.A., Jacobson S.G., Gal A.: RPE65 mutations in childhood-onset, severe retinal degenerations. IOVS 1999 40(4):S575 (3030)
3. Gyűrűs P., Lorenz B., Müller-Myhsok B., Moazami-Benab B., Finckh U., Gal A. Mapping a locus for autosomal recessive retinitis pigmentosa between D2S391-D2S441 on 2p14-p16.1. Medizinische Genetik 2000 12(1) März:S74 (P-I-1.32)

Kongresszusi előadások

1. Gyűrűs P., B. Lorenz, B. Moazami-Benab, U. Finckh, A. Gál: Autoszomális recesszív retinitis pigmentosa locus genetikai térképezése az 1q43 illetve a 2p14-16.1 régiókba „homozygosity mapping“ módszerrel egy német családban. Magyar Humán-genetikusok II. Kong., Pécs, 1999
2. Kosztolányi Sz., Nádasi E., Gyűrűs P., Czakó M., Melegh B.: Mitokondriális DNS polimorfizmusok magyar populációmintában. Magyar Humán-genetikusok II. Kong., Pécs, 1999
3. Laudahn B., Gyűrűs P., Orth U., Gal A., Nienaber C. A. Segregationsanalyse zur Diagnostik bei Marfan-Syndrom. 66 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-Herz- und Kreislaufforschung 27.-29. April 2000. Mannheim

Kongresszusi poszterek

1. Gyűrűs P., Lorenz B., Müller-Myhsok B., Moazami-Benab B., Finckh U., Gal A.: Mapping a locus for autosomal recessive retinitis pigmentosa between D2S391-D2S441 on 2p14-p16.1. 12. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik Lübeck, 2000.

2. Horváth A., Kiss A., Gyűrűs P., Morava É., Melegh B.: A magyar galaktozémiás populáció tipizálása a Q188R és az N314D mutációkra. Magyar Humán-genetikusok Kong. Szeged, 1998.
3. Kovács E., Molnár J., Nádasi E., Czakó M., Gyűrűs P., Morava É., Melegh B.: Friedreich ataxia szűrésére alkalmas molekuláris genetikai módszer. Magyar Humán-genetikusok Kong. Szeged, 1998.
4. Nagy M., Gyűrűs P.: A case of univentricular heart causing non-immunohydrops foetalis. PECO-Euchromic Kongresszus, Bp, 1997

Előadások egyéb tudományos összefüggéseken

Gyűrűs P.: Az epithelioid haemangioma (1995 április, Pécs, Dunántúli Patológusok Társasága, Metszetkonzultáció)

Gyűrűs P.: A Burkitt-szerű T-sejtes lymphoma és a T-sejt differenciálódás. (1995 június, Győr, Biomed Workshop: Lymphoma diagnosztika)

Gyűrűs P.: Mapping the disease locus to Xp11.22-q21.31 in a family with non-specific mental retardation. (1999 október, Århus, Dánia, Århus Meeting of Human Geneticists)