

Szegedi Tudományegyetem
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar
Kísérletes és Megelőző Orvostudományi Doktori Iskola

**A genetikai vizsgálatok és tanácsadás komplexitásai multifaktorális és familiáris
betegségek esetén**

PhD Tézisfüzet

Dr. Bokor Barbara Anna

Témavezetők:

Prof. Dr. Nagy Nikoletta, Ph.D., D.Sc.

Orvosi Genetikai Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Kísérletes és Megelőző Orvostudományi Doktori Iskola, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Dr. Németh Balázs, Ph.D.

Belgyógyászati Klinika, Gasztroenterológiai Centrum, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Kísérletes és Megelőző Orvostudományi Doktori Iskola, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

A tézis alapját képező publikációk:

1. Bokor BA, Abdolreza A, Kaptás F, Pál M, Battyani Z, Sz  ll M, Nagy N. Novel Variants in Medium and Low Penetrance Predisposing Genes in a Hungarian Malignant Melanoma Cohort With Increased Risk. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2025 Jan;38(1):e13214. doi: 10.1111/pcmr.13214. Epub 2024 Nov 28. PMID: 39609110.

Pigment Cell & Melanoma Research, Q1, IF: 2.6, 2025.01. (accepted: 2024.11.)

2. Bokor BA, Abdolreza A, Kapt  s F, P  l M, Battyani Z, Sz  ll M, Nagy N. Novel FANCI and RAD54B Variants and the Observed Clinical Outcomes in a Hungarian Melanoma Cohort. *Int J Mol Sci.* 2024 Dec 24;26(1):23. doi: 10.3390/ijms26010023. PMID: 39795882; PMCID: PMC11719457.

International Journal of Molecular Sciences, Q1, IF: 4.9, 2024.12.

3. Bokor, B.A.; Abdolreza, A.; P  l, M.; Battyani, Z.; Sz  ll, M.; Nagy, N. A Novel Germline Frameshift Variant in the Tumor Suppressor Gene OBSCN in a Melanoma Patient. *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26, 10553. <https://doi.org/10.3390/ijms262110553>

International Journal of Molecular Sciences, Q1, IF: 4.9, 2025.10.

4. Bokor B.A., V  ncsa Sz., Patai   .V., Hegyi P., Németh B.Cs. Longitudinal clinical characteristics of misfolding-induced hereditary pancreatitis caused by PRSS1 p.L104P variant in a Hungarian family. *Pancreatology*, 2026, ISSN 1424-3903, <https://doi.org/10.1016/j.pan.2026.02.003>.

Pancreatology, Q1, IF: 2,7, 2026.02.

BEVEZETÉS

A genetikai vizsgálatok elvégzése és a genetikai tanácsadás a ritka, mendeli öröklődésű kórképek esetén a mindennapi betegellátás részét képezik, számos örökletes rendellenesség esetén egyértelmű szakmai irányelvekkel, szabályozásokkal. A komplex betegségek genetikai hátterével kapcsolatos ismeretek folyamatos bővülésének és személyre szabott betegellátás térhódításának köszönhetően ezen kórképek esetén is egyre nagyobb igény fogalmazódik meg a genetikai vizsgálatok, genetikai tanácsadás iránt a betegellátás javítása érdekében.

Kutatómunkánk során két, elsődlegesen komplex öröklődésű kórkép, melanoma malignum és krónikus pancreatitis esetén végeztünk vizsgálatokat. Bár az öröklődésment szempontjából mindkét betegséget esetén elsősorban multifaktoriális, poligénes betegséggként tartjuk számon, azonban mindkét kórképnek vannak olyan formái, melyek mendeli öröklődésmenttel, autoszomális domináns módon öröklődnek.

A melanoma malignum csírvonalbeli genetikai háttere

A melanoma malignum egy komplex betegség, melynek kialakulásában genetikai, környezeti és életmódbeli tényezők egyaránt szerepet játszanak. Gyakoriságát tekintve a melanoma világszerte az egyik leggyakrabban diagnosztizált daganatos betegség.

Bár a melanoma malignum esetében a genetikai változások többsége szomatikus mutáció, egyre több bizonyíték utal a csírvonalbeli mutációk fontos szerepére a betegség kialakulásában. A magas penetranciájú melanomára hajlamosító gének (*CDKN2A*, *CDK4*, *BAP1*, *POT1*, *ACD*, *TERF2IP* és *TERT*) ritka variánsai nagyon magas melanoma-kockázatot okozhatnak, amely a monogénes, autoszomális domináns öröklődésű betegségekhez hasonló betegség-hajlamot eredményez. A közepes penetranciájú melanomára hajlamosító gének (*MC1R*, *MITF* és *SLC45A2*) és az alacsony penetranciájú gének (*TYR*, *OCA2*, *ASIP*, *PLA2G6*, *FTO*, *PARP1*, *ATM*, *CDKAL1*, *CCND1* és *CYP1B1*) ritka variánsai önmagukban nem képesek melanoma kialakulását okozni, de poligénes módon öröklődve jelentősen növelhetik az egyéni melanoma kockázatot.

A melanomával érintett páciensek 10%-a esetén figyelhető meg pozitív családi anamnézis, mely önmagában is rizikófaktor jelent további melanoma kialakulására nézve. A familiáris melanomás esetek kb. 50%-ában azonosítható ritka, csírvonalbeli, kóroki genetikai eltérés magas penetranciájú melanomára hajlamosító génben. Az esetek másik felében a genetikai háttér általában felderítetlen marad.

Egyre több szakirodalmi bizonyíték utal a melanomára hajlamostító csíravonalbeli genetikai eltérések mellett olyan csíravonalbeli genetikai variánsok jelenlétére, melyek a DNS javító mechanizmusokban játszanak szerepet, és a melanomával érintett páciensek esetén a tumorok progresszióját, a terápiára adott választ befolyásolják.

A páciensek azon részében, ahol az ismert melanomára hajlamostító génekben nem kerül azonosításra patogén, vagy valószínűleg variáns, felmerül a kérdés, hogy nem hordoznak-e csíravonalbeli genetikai eltérést olyan génekben, melyeket melanoma kialakulásával jelenleg még nem, de más tumortípusokkal már kapcsolatba hoztak.

A krónikus pancreatitis genetikai háttere

A krónikus pancreatitis (CP) a hasnyálmirigy folyamatos gyulladásos betegsége, melyet irreverzibilis morfológiai elváltozások, általában krónikus hasi fájdalom és a funkció visszafordíthatatlan károsodása jellemez. A pancreatitis kialakulásának etológiája igen heterogén. Bár a genetikai eltérések szerepe a betegség létrejöttében egyértelmű, multifaktoriális betegséggént a környezeti, életmódbeli faktorok és morfológiai variánsok is szerepet játszanak a pancreatitis kialakulásában. Jelen ismereteink alapján a *PRSS1* gén kóroki eltérései a krónikus hasnyálmirigy-gyulladás oki tényezői lehetnek, míg a *CFTR*, *SPINK1*, *CTRC*, *CPA1*, *TRPV6* gének variánsai, valamint a *CEL*-*MODY* variánsok és a *CEL*-*HYB1* haplotípus a *CEL* génben növelhetik a betegség kialakulásának kockázatát.

A *PRSS1* gén a humán kationos tripszinogént kódolja, mely a tripszin nevű emésztőenzim zimogén formája. A *PRSS1* gén kóroki mutációinak többsége a tripszinogén fokozott aktivációját, vagy csökkent degradációját okozzák, növelve ezzel az intrapancreatikus tripszinogén aktivációt. A *PRSS1* gén kóroki mutációi örökletes hasnyálmirigy-gyulladás kialakulásához vezetnek autoszomális domináns öröklődésmenettel és inkomplett penetranciával.

A *CTRC* gén a kimotripszin C nevű szerin proteázt kódolja, mely funkcionális vizsgálatok alapján fontos szerepet játszik a tripszinogén aktivitás szabályozásában, védő mechanizmust képezve a pancreason belüli tripszin aktivációval szemben. A *CTRC* gén funkcióvesztéssel mutációi a tripszinogén csökkent degradációjához, fokozott intrapancreatikus aktivációjához vezetnek, mely fokozza a hasnyálmirigy-gyulladás kockázatát a tripszin-dependens útvonalon.

Az elmúlt évtizedben közlésre kerültek olyan kóroki *PRSS1* variánsok, melyek fehérje misfoldingot eredményezve vezetnek krónikus pancreatitis kialakulásához, a tripszin aktivációtól függetlenül. A ritka *PRSS1* p.L104P variánst először sporadikus CP esetek

hátterében azonosították, azonban később örökletes hasnyálmirigy-gyulladás kialakulásával is összefüggésbe hozták 3 független család esetén.

CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink célja a genotípus-fenotípus összefüggések pontosabb megállapítása két komplex betegség, a melnaoma malignum és a krónikus pancreatitis esetén.

Annak érdekében, hogy részletesebb információt nyerjünk a melanoma malignum csírvonalbeli genetikai hátteréről, első vizsgálatunk során magas kockázatú magyar melanoma kohort (n=17) vizsgálatát végeztük el, 30 génes, magas, közepes és alacsony penetranciájú melanomára hajlamostó géneket tartalmazó panelvizsgálat alkalmazásával.

Második vizsgálatunk során vizsgálatunk célja annak megállapítása volt, hogy a magas kockázatú magyar melanoma kohortba (n=17) bevont páciensek hordoznak-e kóroki, vagy valószínűleg kóroki eltéréseket olyan génekben, melyeket melanoma esetén a túléléssel és a terápiás válasszal hoztak összefüggésbe, valamint, hogy ezen variánsok jelenléte korrelál-e a páciensek klinikai adataival.

Harmadik vizsgálatunk során megvizsgálatuk, hogy az első vizsgálatunk során negatív páciensek esetén kiterjesztett tumor-panel vizsgálattal azonosíthatunk-e új csírvonalbeli variánsokat olyan génekben, melyeket más daganatok kialakulásával már összefüggésbe hoztak, azonban melanomával kapcsolatban még nem kerültek azonosításra.

A krónikus pancreatitis genetikai hátterével kapcsolatos vizsgálataink során egy magyar család kiterjesztett genetikai vizsgálatát végeztük, akik esetén korábbi publikációnkban a *PRSS1* p.L104P variánst azonosítottuk. Célunk a krónikus pancreatitis klinikai manifesztációjának követése volt a családtagoknál annak érdekében, hogy megfigyeljük és jobban megértsük a misfoldingot okozó *PRSS1* variánsok okozta betegség lefolyását.

PÁCIENSEK ÉS MÓDSZEREK

Páciensek és módszerek a magas rizikójú melanoma kohort esetén

A melanoma malignummal kapcsolatos vizsgálatunkba 17 nem rokon magyar melanoma páciens került bevonásra. 10 páciens nő, hét férfi volt. 14 páciens esetén diagnosztizáltak melanoma malignumot, három páciensnél pedig diszplasztikus naevus szindrómát. Az átlag életkor a melanoma diagnózisakor 49.5 év volt. Genetikai tanácsadást és írásbeli tájékozott beleegyezést követően perifériás vérmintát vettük, majd a QIAGEN DNeasy kit segítségével DNS izolálás történt.

A bevonási kritériumokhoz szükséges diagnózist olyan páciensek esetén állítottuk fel, akiknél két primer melanomát diagnosztizáltak (szinkron vagy metakron) vagy olyan családok esetén, ahol egy invazív melanomával érintett és egy vagy több melanomával és/vagy hasnyálmirigy daganattal érintett első- vagy másodfokú rokon volt (Zocchi és mtsai. 2021). Azon páciensek esetén is végzetünk genetikai vizsgálatot, akiknél egy melanoma malignum és számos diszplastikus naevus volt jelen, familiáris atípusos többszörös melanoma (FAMMM) szindróma gyanúja miatt.

Kutatásaink a Nemzeti Népegészségügyi Központ jóváhagyásával, a Helsinki irányelveknek megfelelően történtek.

Célzott újgenerációs szekvenálás (NGS) virtuális génpanel alkalmazásával

A páciensek genotípusát célzott újgenerációs szekvenálás (NGS) alkalmazásával állapítottuk meg. A könyvtárkészítés a SureSelectQXT Reagent Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) segítségével történt. A poolozott könyvtárak szekvenálása Illumina NextSeq 550 NGS platformon történt a 300-cycle Mid Output Kit v2.5 (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA) alkalmazásával. Az adapter-trimmelt és Q30-szűrt „paired-end” leolvasásokat a hg19-es humán referencia genomhoz illesztettük a Burrows-Wheeler Aligner (BWA) segítségével. A duplikátumokat a Picard szoftver csomag segítségével szűrtük. A variánshívás a Genome Analysis Toolkit (GATK) segítségével történt (BaseSpace BWA Enrichment Workflow v2.1.1. with BWA 0.7.7-isis-1.0.0, Picard: 1.79 and GATK v1.6-23-gf0210b3).

Azok a variánsok kerültek downstream analízisre és annotálásra az ANNOVAR szoftver (2017 július 17. verzió) segítségével, melyek átmentek a GATK szűrőn. Az egy nukleotidot érintő polimorfizmusok vizsgálata az alábbiak szerint történt: a magas minőségű szekvenciák illesztésre kerültek a humán genomhoz (GRCh37/hg19) a szekvenciavariánsok detektálása érdekében, melyek analízisre és annotálásra kerültek. A variánsokat a leolvasási mélység, allélfrekvencia, és a genomi adatbázisokban (pl. ExAc (v.0.3), Kaviar) szereplő prevalenciájuk alapján szűrtük. Variáns prioritizációs eszközöket (PolyPhen-2, SIFT, LRT, Mutation Assessor) alkalmaztunk a mutációk okozta funkcionális változások előrejelzésére.

A szekvenálási eredményeket a Franklin Genoox weboldal segítségével interpretáltuk (<https://franklin.genoox.com>). Első vizsgálatunk során egy olyan génpanelt készítettünk és alkalmaztunk, mely 30 melanomára hajlamosító gént tartalmazott (*ACD, AGR3, ARNT, ASIP, ATM, BAP1, CASP8, CCND1, CDK4, CDKAL1, CDKN2A, CYP1B1, FTO, HERC2, MBD4, MC1R, MITF, MX4, OCA2, PARP1, PLA2G6, POT1, SETDB1, SLC45A2, STN1, TERF2IP,*

TERT, TMEM38B, TYR and *XRCC3*). A másodlagos találatokat az érvényes ACMG irányelvek alapján szűrtük és riportáltuk (ACMG SF v3.2).

Második vizsgálatunk során a szekvenálási eredményeket egy 6 génes virtuális panel alkalmazásával értékeltük (*BRCA2, POLE, WRN, FANCI, PALB2* and *RAD54B*), melyek a melanoma prognózist és túlélést befolyásolják.

A magyar melanoma kohorton végzett harmadik vizsgálatunk során alkalmazott virtuális génpanel 19 olyan gént tartalmazott, melyeket számos egyéb daganattípus kialakulásával hoztak összefüggésbe (*ABCA1, ADAMTSL3, ATP8B1, CUBN, DIP2C, EGFL6, EPHA3, EPHB6, FBXW7, FLNB, GNAS, MACF1, MLL3, OBSCN, PKHD1, SPTAN1, SYNE1, TECTA,* és *ZNF668*).

A variánsokat az ACMG irányelvek alapján interpretáltuk. A kandidáns variánsokat bidirekcionális kapilláris Sanger szekvenálással validáltuk mindhárom vizsgálatunk során.

Páciensek és módszerek az örökletes krónikus pancreatitissel érintett magyar család esetén

Elvégeztük a korábbi közleményükből ismert, örökletes pancreatitisben szenvedő családtagok utánpótlását, valamint új családtagokat is bevontuk. A páciensektől klinikai adatokat gyűjtöttünk.

A vérmintákból, gyermekek esetén szájnyalvákártya-mintából genomi DNS-t izoláltunk. Az anonimizált DNS mintákat a Magyar Hasnyálmirigy Regiszterből gyűjtöttük (etikai engedély: 22254-1/2012/EKU and TUKEB 36305-1/2016/EKU and NNK 17787- 8/2020/EUIG, biobanki engedély: IF702-19/2012). Minden résztvevő tájékozott beleegyezést tett a Helsinki Nyilatkozat etikai irányelveinek megfelelően.

PCR és DNS szekvenálás

A célzott szekvenciák konvencionális polimeráz láncreakcióval (PCR) kerültek amplifikálásra. A PCR 1.0 U HotStarTaq DNA Polymerase (Qiagen), 0.2 µM dNTP, 0.5 µM primers, 10x PCR buffer (Qiagen) és 10-50 ng DNS templát felhasználásával történt 20 µL végtérfogattal. A PCR amplikonokat Sanger módszerrel szekvenáltuk.

Széklelet elasztáz mérés

A széklelet elasztáz koncentráció szemikvantitatív mérése a gyártó utasításainak megfelelően történt (ScheBo ® Pancreatic Elastase 1 Stool Test).

EREDMÉNYEK

Melanoma malingumra hajlamosító csíravonalbeli variánsok

A 30 génes panel alkalmazásával a 17 fős magyar melanoma kohortból 10 páciens (58.82%) esetén azonosítottunk melanomára hajlamosító csíravonalbeli variánst.

Azonosításra kerültek ritka csíravonalbeli heterozigóta variánsok (n=11), egy variáns magas penetranciájú melanomára hajlamosító génben (*CDKN2A*), egy közepes penetranciájú génben (*MC1R*) és kilenc variáns alacsony penetranciájú génekben (*ATM*, *TYR*, *OCA2*, *SETDB1*, *FTO*, *CASP8*, *PARP1*). A 11 azonosított ritka variánsból hat új variáns, melyek jelen vizsgálatunk során kerültek először azonosításra.

A hat új variáns tekintetében három variáns valószínűleg patogén: a p.Y143C misszensz variáns az *MC1R* közepes penetranciájú melanomára hajlamosító génben, és két variáns alacsony penetranciájú génekben: a p.Q218Ter variáns a *CASP8* génben és a p.Q40Ter variáns az *FTO* génben.

A hatból három új ritka csíravonalbeli variáns ismeretlen jelentőségű variáns (VUS) és alacsony penetranciájú génekben találhatóak. Az újonnan azonosított ritka variánsok a következők: a *SETDB1* p.T582A misszensz variáns egy valószínűleg patogénbe hajló VUS, míg a *PARP1* p.E175L és az *OCA2* p.T606I variánsok VUS variánsok.

Az azonosított rekurrens csíravonalbeli heterozigóta variánsok (n=5) között egy patogén variánst azonosítottunk az alacsony penetranciájú *TYR* génben. Az ötből három rekurrens variáns klasszifikációja valószínűleg patogén felé hajló VUS, közülük egy a *CDKN2A* magas penetranciájú génben, míg kettő alacsony penetranciájú génekben, az *OCA2* és *SETDB1* génekben található. Egy ritka rekurrens VUS variánst detektálunk továbbá az *ATM* génben.

A gyakori variánsok tekintetében a *TYR* alacsony penetranciájú génben található p.R402Q misszensz polimorfizmus (rs1126809) A rizikó allélja a 17 melanomás páciens közül 14 esetén (82.35%) volt jelen. Az elmúlt időszakban került leírásra, hogy a p.R402Q A allélja rizikó haplotípust alkot a *TYR* c.-301C>T promoter SNP (rs4547091) C alléljával oculocutan albinizmusban. A szegregációs vizsgálatokat követően egyik páciens esetén sem azonosítottuk a CA rizikó haplotípust.

Egy páciens esetén azonosításra került a *BRCA1* p.C61G patogén variáns másodlagos találatként, mely ismert kóroki varián örökletes emlő- és petefészekdagant háttérben.

A melanoma prognózisát befolyásoló csírvonalbeli variánsok

A 6 gént tartalmazó panel vizsgálattal a 17 páciens közül 4 esetén (23,5%) azonosítottunk eltérést. Egyik variáns sem fed át a *BRCA2*, *POLE*, *WRN*, *FANCI*, *PALB2* és *RAD54B* génekben Amaral és mtsai. által azonosított variánsokkal. Három új variánst azonosítottunk a *FANCI* génben három páciensben, és egy új variánst a *RAD54B* génben egy melanomás páciens esetén.

Az új *FANCI* c.3111_3123del, p.S1038LfsTer19 variáns valószínűleg patogén besorolású, míg az új c.2768A>G, p.Y923C és c.3896G>T, p.R1299L variánsok a *FANCI* génben ismeretlen jelentőségű variánsok. Az új *RAD54B* c.337A>G p.K113E variáns szintén bizonytalan jelentőségű variáns.

A p.Y923C variáns a *FANCI* solenoid 3 funkcionális doménjét érinti (787-972. aminosav pozíciók), míg a p.S1038LfsTer19 variáns a *FANCI* solenoid 4 doménjét érinti (985-1236. aminosav pozíciók). A p.R1299L variáns nem érint ismert funkcionális domént a *FANCI* fehérjében (SMART Protein, https://smart.embl.de/smart/show_motifs.pl?ID=Q9NVI1-1&DO_PFAM=DO_PFAM&).

Elvégeztük a variánsokat hordozó páciensek klinikai adatainak elemzését is.

A *FANCI* génben azonosított valószínűleg patogén variánst egy olyan páciens hordozza, akit először 31 évesen diagnosztizáltak melanoma malignummal. Később, 55 éves korban második, okkult melanomával diagnosztizálták, mely a diagnózis idejére multiplex metasztázisokat képzett. A páciens 11 hónappal a diagnózist követően elhunyt a terápiás törekvések ellenére.

A betegség előrehaladott természete a diagnózis idejében, a kedvezőtlen prognózis, és az immunterápiára és célzott molekuláris terápiára mutatott rezisztencia a valószínűleg patogén *FANCI* variáns jelenlétében a variáns betegséglefolyás-módosító szerepét támogatja melanoma malignummal érintett pácienseknél.

A *FANCI* génben azonosított másik két új VUS variáns esetén a páciensek klinikai adatai tükrében nem tudtunk betegségmódosító hatást azonosítani, így további vizsgálatok és a páciensek utánkövetése szükséges a variánsok melanoma progresszióra és terápiás válaszra kifejtett hatásának megítélésére.

Azonosítottunk továbbá egy VUS variánst a *RAD54B* génben egy 43 éves női páciens esetén, akinél pT4 stádiumú melanoma malignumot diagnosztizáltak. A melanoma excízióját követően további kezelést nem alkalmaztak, és 5 éves utánkövetés után a páciens jelenleg tünetmentes.

Mindezek alapján nem került alátámasztásra a csírvonalbeli *RAD54B* p.K113E variáns betegségmódosító hatása.

Más tumorokra hajlamosító gének csírvonalbeli eltérései a melanomás páciensekben

A kiterjesztett génpanel vizsgálattal azonosításra került az *OBSCN* tumorsuppresszor génben a p.G7108AfsTer10 frameshift csírvonalbeli variáns egy cutan melanomával diagnosztizált 58 éves nőbetegben. Az ACMG irányelvek alapján a variáns valószínűleg patogén.

A páciens anamnézisében egy primer melanoma szerepelt, más daganat nem ismert. Családi anamnézisben nem tudott melanomáról, azonban édesanyjánál is kimutattuk az azonosított *OBSCN* variánst. Egy harmadfokú rokon (anyai unokatestvér) érintett emlődaganattal, azonban ez a családtag nem szeretne volna a genetikai vizsgálatot.

A variánssal kapcsolatban jelenleg nem állnak rendelkezésre funkcionális vizsgálatok; azonban a variáns trunkáló jellege erőteljesen támogatja a fehérjefunkcióra nézve károsító hatást.

Örökletes krónikus hasnyálmirigy-gyulladással érintett magyar család

A 11 vizsgált családtag közül kilenc esetén azonosítottuk a *PRSS1* p.L104P variánst. A családban végzett korábbi vizsgálataink idején csak három családtagnál volt diagnosztizált CP. Az utánkövetés során azonban két további, korábban tünetmentes hordozó családtagnál alakult ki CP, valamint egy 5 éves kislánynál is azonosítottuk a p.L104P variánst, akit nem sokkal ezután diagnosztizáltak krónikus pancreatitisszel három súlyos akut epizódot követően.

A CP diagnózisának életkora a családon belül igen nagy változatosságot mutatott, 5 és 58 év között. Minden családtagnak több akut epizódja volt a CP diagnózisát megelőzően vagy azt követően. A képalkotó vizsgálatok a CP karakterisztikus jeleit mutatták, a pancreas atrófiáját és kalcifikációját, minden családtag esetén megfigyelhető volt a Wirsung vezeték tágulata, a hatból öt páciensnél volt Wirsungolithiasis és két családtagnál alakult ki pancreas pszeudociszta. A széklet elasztáz vizsgálat minden tünetes családtag esetén súlyos exokrin diszfunkciót mutatott, míg minden tünetmentes hordozónál normál funkciót észleltünk. Két páciensnél alakult ki 3c típusú cukorbetegség. Megjegyzendő továbbá, hogy míg egy 13 éves hordozó gyermek tünetmentes maradt, növekedési üteme elmaradt a normálistól az utánkövetés alatt (magassága 10 pc).

Mindeddig egyik családtagnál sem alakult ki hasnyálmirigy-daganat.

DISZKUSSZIÓ

Melanoma malingumra hajlamosító csírvonalbeli variánsok

Elvégzett vizsgálatunk tovább tágitja a kimutatott melanomára hajlamosító csírvonalbeli variánsok spektrumát a 17 fős magyar familiáris melanoma kohort adatai alapján.

A különböző variánsok által okozott fokozott melanoma rizikó pathomechanizmusa eltérő lehet. A magas penetranciájú, valamint bizonyos közepes és alacsony penetranciájú gének variánsai a gének sejtciklusban, differenciációban és sejtosztódásban játszott fontos szerepét károsítják, míg a legtöbb közepes és alacsony penetranciájú gén a melanomára hajlamosító fenotípus kialakításán keresztül fejt ki hatását (pl. naevusok nagyobb száma és denzitása, kevésbé pigmentált bőr és haj, fokozott UV érzékenység). Vizsgálatunk eredménye ezen megfigyelésekkel összhangban van.

Bár a legtöbb páciens esetén azonosítottunk hajlamfokozó variánst, a betegség multifaktoriális eredetére tekintettel fontos megjegyezni, hogy egyes páciensek beszámoltak olyan életmódbeli tényezőkről, melyek hozzájárulhatnak melanoma malignum kialakulásához (magas napfénynek való kitettség, gyakori napégések gyermek- és fiatal felnőttkorban, szolárium használat).

Vizsgálatunk során hat új variánst azonosítottunk melanoma kialakulásával összefüggésbe hozott génekben. Ezen variánsok nem csak bővítik a gének variáns spektrumát, de a familiáris melanomával való asszociációjukról is beszámolunk. Az új variánsok között riportálásra került közepes penetranciájú génben az *MC1R* p.Y143C valószínűleg patogén, misszensz variáns. A *CASP8* p.Q218Ter és az *FTO* p.Q40Ter nonszensz, valószínűleg patogén variánsok alacsony penetranciájú génekben vannak jelen. Három új VUS variánst azonosítottunk a *SETDB1*, *OCA2* és *PARP1* alacsony penetranciájú génekben. Ezen VUS variánsok esetén további vizsgálatok szükségesek melanoma kialakulásában játszott szerepük bizonyítására.

A rekurrens variánsok tekintetében az *ATM* p.R2912G, a *CDKN2A* p.V115L és a *SETDB1* p.R1076C variánsokat többféle egyéb daganattípussal kapcsolatban azonosították, míg az *OCA2* p.R811S és a *TYR* p.G109R variánsokat oculocutan albinizmussal hozták összefüggésbe.

A fentiek alapján, a szakirodalom áttekintését követően levonhatjuk a következtetést, hogy a jelen vizsgálat során azonosított, korábban már közölt variánsokat eddig nem írták le melanoma hajlammal kapcsolatban, a *TYR* c.1205G>A polymorfizmus kivételével.

A melanomára hajlamosító gének gyakori variánsainak tekintetében kiemelendő a *TYR* c.1205G>A variáns, melyet nem csak oculocutan albinizmussal hoztak összefüggésbe, de

melanoma rizikófaktoraként is leírták. Mindemellett azonban vizsgálati kohortunkban nem azonosítottuk a szakirodalomból ismert *TYR* haplotípusokat, mely a relatív kis mintaszámnak is köszönhető lehet.

Egy férfi páciens esetén azonosításra került a *BRCA1* c.181T>G variáns másodlagos találatként. Bár a *BRCA1* gén nem szerepel a melanomára hajlamosító gének között, rendelkezésre állnak olyan szakirodalmi adatok, melyek a *BRCA1* és *BRCA2* gének melanomára hajlamosító szerepét írják le, elsősorban férfiak esetén. Mindezek alapján ezen páciens esetén a mutációt patogén találatnak tekintettük, és javasoljuk a *BRCA1* és *BRCA2* gének felvételét a melanoma-asszociált gének közé.

A melanoma prognózisát befolyásoló csíravonalbeli variánsok

A DNS javító mechanizmusokban szerepet játszó *BRCA2*, *POLE*, *WRN*, *FANCI*, *PALB2* és *RAD54B* gének csíravonalbeli variánsait összefüggésbe hozták a melanomával diagnosztizált pácienseknél kedvezőtlenebb progresszióval és terápiás válasszal. A *BRCA2* fehérje a genomstabilitás fenntartásában, a duplszálú DNS javításának homológ rekombinációs útvonalában játszik szerepet. A *POLE* és *WRN* gének szerepe a genom integritásának fenntartása a DNS repikáció és javítás által. Ezen gének csíravonalbeli mutációi károsíthatják a fenti funkciókat, hozzájárulva a melanoma sejtek genomi instabilitásához. Továbbá, a *FANCI*, *PALB2* és *RAD54B* gének variánsait a melanoma páciensek megváltozott túlélésével hozták összefüggésbe. A *FANCI* gén a Fanconi anaemi útvonal része, mely kulcsfontosságú a DNS szálak közötti keresztkötések javításában. A *FANCI* géneltérések hatására felszaporodhatnak a DNS károsodások a melanoma sejtekben, mely agresszívebb daganatos jelegeket eredményezhet. A *PALB2* fehérje a *BRCA2* fehérjével lép interakcióba a homológ rekombináció során, így a *PALB2* mutációk hasonló módon fokozott melanoma kockázattal és kedvezőtlenebb túléléssel hozhatóak összefüggésbe.

A *FANCI* fehérje 4 alfa solenoid egységből áll (S1-S4). Az általunk azonosított három új *FANCI* variáns tekintetében, a p.S1038LfsTer19 variáns a solenoid 4 domént, a p.Y923C variáns pedig a solenoid 3 domént érinti. Eredményeink jól korrelálnak a korábban publikált megfigyelésekkel, mivel az Amaral és mtsai. (2020) által közölt 9. exon heterozigóta deléción is a *FANCI* fehérje solenoid 3 doménjében helyezkedik el.

Más tumorokra hajlamosító gének csíravonalbeli eltérései a melanomás páciensekben

Az *OBSCN* gén az obszkurin fehérjét kódolja, mely az óriás szarkomerikus szignálfehérjék közé tartozó igen nagy citoskeletális fehérje. Az obszkurin több immunglobulin-szerű (Ig-like)

és fibronectin III típusú (FnIII) domént tartalmaz a szignál motívumok mellett (pl. RhoGEF és kináz domének). Kulcsszerepet játszik a citoszkeleton szerveződésében, sejtadhézióban, sejt-sejt felismerésben és intracelluláris jelátviteli útvonalakban. Az *OBSCN* a humán genom egyik legnagyobb génje, hosszúsága növeli mind szomatikus, mind csíravonalbeli mutációk létrejöttének az esélyét.

Az azonosított frameshift variáns (p.G7108AfsTer10) az 7077–7146. aminosavak alkotta Ig-like doménben helyezkedik el. A variáns trunkáló jellegét figyelembe véve az Ig-like doménen belül, valószínűsíthető, hogy a variáns károsíthatja a citoszkeleton stabilitását és az intracelluláris jelátvitelt, az obszkurin strukturális integritásában és jelátvitelben játszott szerepe alapján. Bár a variáns a C-terminális jelátviteli és kináz régió elvesztését okozza, számos N-terminális domén, beleértve a pleckstrin homológ (PH) és Src homológ 3 (SH3) doméneket, intakt marad. Ezen régiók megtartása következtében lehetséges részleges kapcsolódás a citoszkeletonális partnerekhez, azonban előfordulhat, hogy aberráns vagy funkcióképtelen protein-komplex képződik. Továbbá, a domináns negatív hatást sem zárhatjuk ki, mely esetben a trunkált obszkurin kompetícióba kerül a normál hosszúságú fehérjével a kötőhelyekért, potenciálisan megzavarva a citoszkeletonális és adhézis útvonalaikat.

Egyre több bizonyíték utal az *OBSCN* tumorszuppresszor szerepére többféle daganattípusban. A tumorgenezis mechanizmusa háttérben a károsodott citoszkeletonális stabilitás, megváltozott sejt-sejt adhézió és az intracelluláris jelátvitel szerepét feltételezik, melyek végül az invazív és metasztatikus fenotípus kialakulásához vezetnek. A heterozigótáság elvesztését (LOH) több tumor esetén is leírták az *OBSCN* lókuszbán, a gén tumorszuppresszor jellegét alátámasztva.

Megfigyeléseink alapján elsőként közöltünk nonszensz csíravonalbeli variánst az *OBSCN* génben egy melanomával diagnosztizált páciens esetén. A páciens esetén egyéb csíravonalbeli variáns nem került azonosításra, így az azonosított *OBSCN* variáns jelenti az egyetlen csíravonalbeli hajlamosító faktort, mely alapján feltételezhetjük a melanoma kialakulásában játszott szerepét. A proband tünetmentes édesanyja is hordozza a variánst, mely a variáns inkomplett penetranciájára, valamint protektív genetikai vagy környezeti faktorok hatására utalhat. Ezek alapján további szegregációs és funkcionális vizsgálatok szükségesek az *OBSCN* gén melanoma hajlamban játszott szerepének meghatározására.

Az új *OBSCN* géntérés melanomával érintett páciensben történt csíravonalbeli azonosításának több lehetséges következménye is van. Elsőként, az eset alátámasztja a kiterjesztett tumor-panel vizsgálat használatának klinikai jelentőségét melanomával érintett pácienseknél, akiknél a melanoma panel negatív. A teszt előtt és után kulcsfontosságú a genetikai tanácsadás, valamint

hosszútávú bőrgyógyászati és onkológiai utánkövetés javasolt mind a probandnak, mind az édesanyjának a variáns csíravonalbeli jellege, valamint a több tumortípussal való asszociációja miatt. Az *OBSCN* más tumorokkal való asszociációjára tekintettel a hordozók számára előnyös lehet átfogó szűrővizsgálati protokoll bevezetése.

Örökletes krónikus hasnyálmirigy-gyulladással érintett magyar család

Korábbi vizsgálatunk során a *PRSS1* p.L104P variáns alacsony penetranciáját figyeltük meg, azonban hipotézisünk alapján ennek háttérében az örökletes hasnyálmirigy-gyulladás későbbi betegségkezdetét feltételeztük. Hipotézisünkkel összhangban, a korábban tünetmentes hordozók közül több családtagnál alakult ki CP. Az újonnan megfigyelt penetrancia így ~67%, mely magasabb, mint a korábban ezen család esetén közölt ~43%.

A vizsgálatunk ideje alatt egy, a p.L104P variánst hordozó öt éves kislánynál is kialakult CP. Ez a megfigyelés ellentétben áll a korábbi hipotézisünkkel a betegségkezdet tekintetében, azonban összhangban van Enea és mtsai. megfigyeléseivel, akik két gyermek esetén azonosították a p.L104P variánst, akiknél szintén fiatal korban alakult ki CP. Ezek a megfigyelések a variáns okozta igen változó betegségkezdetre utalnak a késői helyett.

Azt is érdemes kiemelni, hogy a legtöbb családtag esetén a CP diagnózisa az első dokumentált akut epizóddal egyidőben, vagy nem sokkal azt követően történt, mely arra enged következtetni, hogy a pancreas morfológiai eltérései már jóval azelőtt fennállhatnak, hogy a páciensek tünetessé válnak. Az alkalmazott széklet elasztáz vizsgálattal azonban nem tudtunk exokrin diszfunkciót igazolni a tünetmentes hordozó családtagok esetén.

A betegség morfológiai megjelenése esetén is megfigyeltünk karakterisztikus jegeket. A képalkotó vizsgálatok majdnem minden tünetes páciens esetén pancreas köveket és a Wirsung vezeték tágulatát mutatták. Ezen megfigyelés alapján azt feltételezzük, hogy a *PRSS1* p.L104P variáns kalcifikáló krónikus pancreatitis kialakulását eredményezi pancreas kövesség, valamint Wirsung vezeték tágulat kíséretében.

KÖVETKEZTETÉSEK

A genetikai vizsgálatok és tanácsadás bevezetése a jövőben a komplex betegségben szenvedők rutin ellátásába nélkülözhetetlen a betegek személyre szabottabb kezelésének érdekében. A komplex betegségek esetén a magas kockázatú páciensek azonosítására a nagy áteresztőképességű genetikai vizsgálatok alkalmazása javasolt mind a ritka, magas kockázatot okozó variánsok, mind a gyakori, alacsony kockázatot okozó variánsok azonosítására, melyek

együttesen járulnak hozzá az egyénre szabott poligénes rizikó meghatározásához, melynek mértéke akár a mendeli öröklődéshez hasonló is lehet.

A nagy áteresztőképességű vizsgálati módszerek alkalmazásával a páciensek genetikai profilja igen nagy mélységben vizsgálható, mely lehetővé teszi nem csak a kóroki és hajlamfokozó genetikai variánsok azonosítását, de a betegségek progresszióját, a túlélést és terápiás választ befolyásoló géneltérések azonosítására is lehetőséget nyújt.

A komplex betegségek tekintetében az új vizsgálati módszerek és az általuk nyert genetikai eredmények értelmezése és kommunikációja szintén különös megfontolást igényel. A rizikóbecslés a genetikai tanácsadás kiemelkedően fontos része, így a lehetséges rizikó-variánsok minél pontosabb azonosításának kiemelt jelentősége van, hiszen a komplex betegségek esetén a rizikószámítás elsősorban a populációs vizsgálatok adatain alapszik. Fontos továbbá olyan univerzálisan alkalmazható, vagy betegség-specifikus számítási módszerek kidolgozása, melyek alkalmazásával az egyéni poligénes rizikó pontosan kiszámítható.

A tanácsadó szakember szempontjából is igen nagy gondosságot igényel az egyéni rizikó közlése, mivel a poligénes rizikó mértéke igen széles skálán mozoghat, és egyes páciensek számára kifejezett pszichés terhet jelenthet. A kommunikáció során a tanácsadást végzőnek részletesen el kell magyaráznia a számított rizikó jelentőségét, az alkalmazott módszerek előnyeit és hátrányait, a kapott kockázati érték bizonytalanságait, mely a rizikó-variánsokkal kapcsolatos hiányos tudásunkból, valamint a bizonytalan jelentőségű variánsok jelenlétéből fakadhat. A szakember feladata továbbá, hogy tájékoztassa a páciens a komplex betegség egészségügyi következményeiről, a szűrési és megelőzési lehetőségekről, valamint a lehetséges terápiákról. Kifejezetten fontos továbbá, hogy a páciens tájékoztatása számára érthető formában történjen a tájékozott döntéshozatal elősegítése érdekében.

A komplex betegségek genetikai hátteréről egyre bővülő szakirodalmi adatok, melyhez jelen tézisben közölt eredményeink is hozzájárulnak, a komplex betegségekkel érintett páciensek ellátásában paradigma-váltás szükségességét vetítik előre a személyre szabottabb ellátás bevezetése érdekében. Ennek megalapozásához a magas-rizikójú páciensek azonosítása szükséges átfogó genetikai vizsgálatok alkalmazásával, valamint a poligénes, multifaktoriális betegségek genetikai tanácsadása során alkalmazható új, egységes irányelvek kidolgozása is elengedhetetlen.