

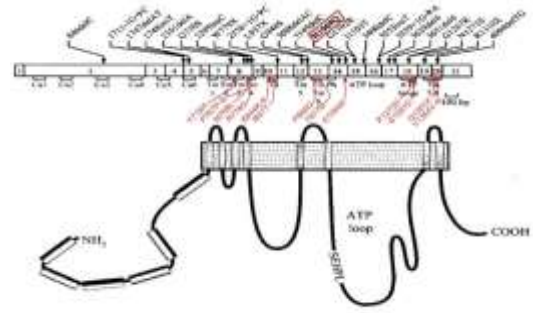


Májbetegségek genetikai vonatkozásai

Wilson-kór új szemlélete

Folhoffer Anikó

Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika



Thomas Nature Genetics, 1995 és
Shah Am J Hum Genet, 1997
alapján módosítva

Bevezetés

- A **Wilson-kór** a réz anyagcsere autoszomális recesszív módon öröklődő zavara, aminek következtében a **réz felhalmozódik a különböző szervekben** és változatos klinikai képet hoz létre, **főként hepatológiai és neuropszichiátriai tünetekkel**. Eddig egyetlen, a **13. kromoszóma hosszú karján** elhelyezkedő (13q14) transzmembrán **P-típusú ATP-ázt**, ATP7B proteint kódoló génről igazolódott, hogy mutációinak valóban **oki szerepe van** a betegség kialakulásában.
- Az ATP7B gén felfedezése óta **a mai napig több mint 1000 mutációt** (50%-a single nucleotid missense/nonsense, a többi insertio, deletio, ill. splice site mutáció) írtak le, a Human Genome Database adatai szerint. Ezek **egy része patogén**, mások nem okoznak lényeges problémát.
- Önmagában a genetikai eltérés igazolása alapján nem lehet előre megjósolni**, hogy az milyen **klinikai képhez**, ill. a **réztranszport funkciójának milyen mértékű károsodásához vezet**. Így a legkorszerűbb genetikai módszerekkel, akár második generációs szekvenálással igazolt eltérés mellett is **szükséges a réz anyagcsere paraméterek vizsgálata, a klinikai diagnózis felállításához**.

Genetikai háttér – monogén

- 13. kromoszóma hosszú karja (13q14,3-q21,1)
- P-típusú réz transzportáló ATP-áz fehérjét kódol
- Mintegy 800 patogén mutáció és 100 polymorphism
 - Wilson disease mutation database
<http://www.wilsondisease.med.walterto.ca/database.asp>
 - Wilson's disease, 100 years later.... Trocello JM et al 2013 Rev Neurol (Paris)
- Közép-Európában leggyakoribb a H1069Q (Mo.: 71% prev.)
- A 8, 13, 14, 15 és 18-as exon mutációja viszonylag gyakori
- Magyarországi Wilson betegek esetében is a H1069Q

pontmutáció a leggyakoribb

Fimeisz és mtsai Am J Med Genet 2002

Folhoffer és mtsai Eur J Gastroenterol Hepatol 2007

Németh D és mtsai Gastroenterology Research and Practice 2016

Exonok – intronok vizsgálata

A DNS-nek csak kb. 1-2%-a kódol fehérjét, ezek az exonok

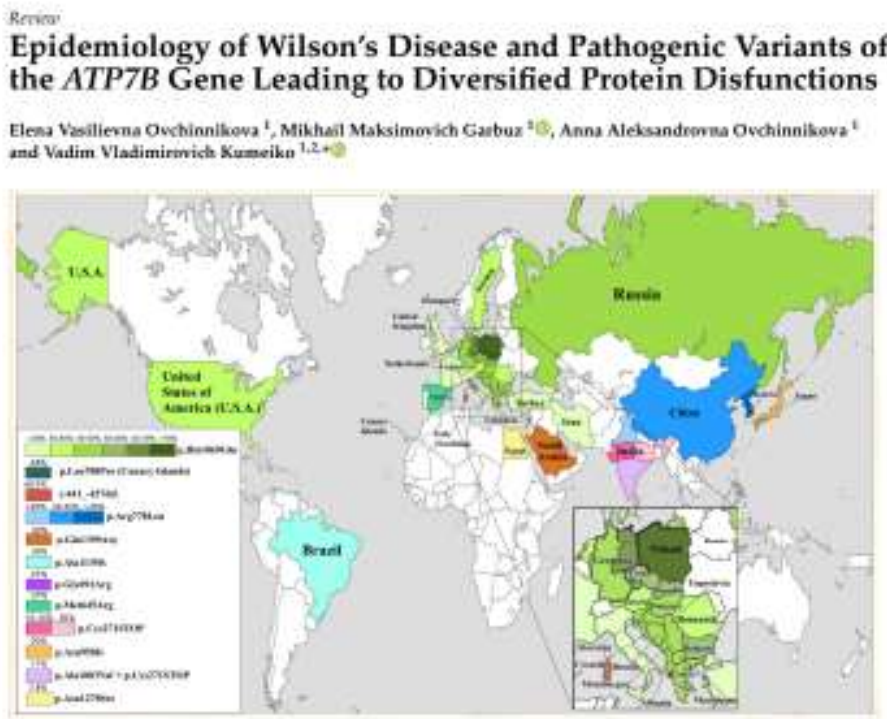
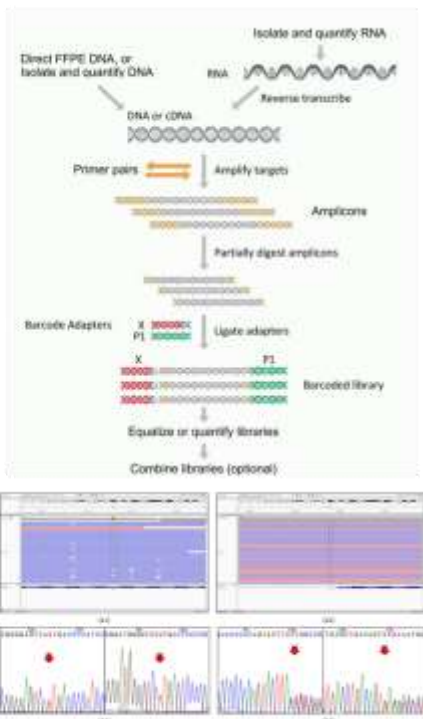
A legtöbb betegséget okozó mutáció itt található

- Az aminosav sorrend megváltozása **hibás vagy nem működő fehérjéhez vezet**
- Stop kodon** – fehérjeszintézis leáll
- Frameshift** – keret eltolódás – a teljes aminosav sorrend elcsúszik

Az exonok könnyen vizsgálható, jól definiált régiók, viszonylag rövid szakaszok,

ezért ide könnyű primereket tervezni – szekvenálásuk gyors és megbízható

(hagyományos Sanger vagy new generation sequencing)



Exonok – intronok vizsgálata

Int. J. Mol. Sci. 2024, 25, 2402

Splice site mutációk az exon intron határon:

A legtöbb intron elején és végén „splice szekvenciák” vannak (pl. GT-AG), amiket a splicing mechanizmus felismer.

Ha ezeken a szakaszon található mutáció, akkor egy exon kimarad vagy egy intronrészlet beillesztődik és hibás mRNS íródik át, majd hibás fehérje szintetizálódik

Mélységi intronikus mutációk:

Az intron távolabbi régiójában új splice helyeket hoznak létre (pl. kriptikus exon) vagy a szabályozást zavarják meg (pl. enhancer, silencer elemek)

Ezek vizsgálata nem rutinszerű - megmagyarázhatatlan esetekben, kutatásban

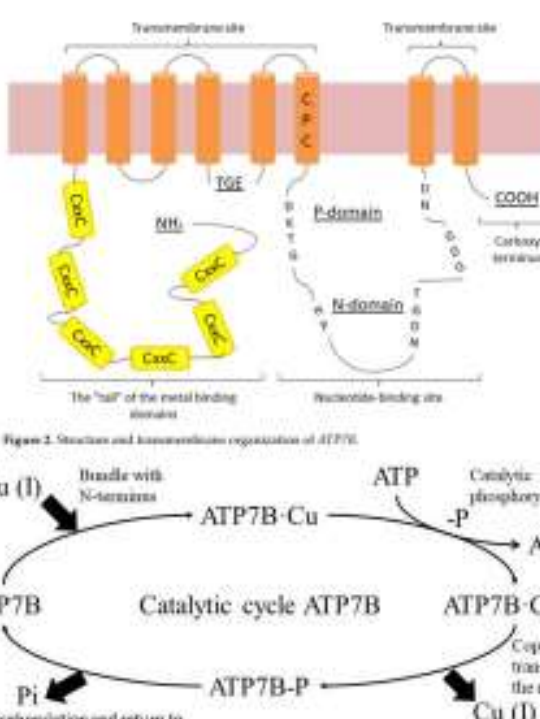


Figure 3. Scheme of the ATP7B catalytic cycle.

Egyéb genetikai eltérések a Wilson-kór hátterében

Hagyományos módszerekkel, rutinszerűen nem vizsgálhatóak

A regulátor (promoter, enhancer) régió mutációja – csökkent génexpresszió

Nagy delécio vagy duplikáció

Komplex szerkezeti variánsok

Teljes genom szekvenálás

RNS szekvenálás a génexpresszió és splicing vizsgálatára

Wilson Disease Epigenetic Factors Contribute to Genetic Mutations to Affect the Disease (Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2021)

Epigenetikai módosítások:

DNS metiláció, hiszton modifikáció, miRNS-ek

Modulátor gének – nem okoznak önmagukban Wilson-kórt:

ATOX1, COMMD1, stb.

Epigenomic signatures in liver and blood of Wilson disease patients include hypermethylation of liver-specific enhancers

Teljes genom szekvenálás

Whole-exome sequencing identifies novel pathogenic variants across the ATP7B gene and some modifiers of Wilson's disease phenotype

Anna Kluska¹ | Maria Kulecka² | Tomasz Litwin³ | Karolina Dzięczy⁴ | Aneta Balabas¹ | Magdalena Platkowska⁵ | Agnieszka Paziewska² | Michalina Dabrowska¹ | Michal Mikula¹ | Diana Kaminska⁴ | Anna Wiernicka⁴ | Piotr Socha⁴ | Anna Czlonkowska² | Jerzy Ostrowski^{1,2}

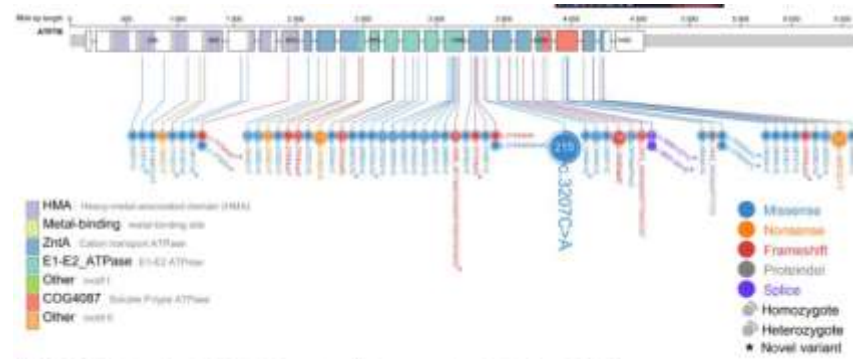


FIGURE 1 | Mutations found in the ATP7B gene. Visualization was performed with ProteinPaint¹⁴

Laboratory and clinical evaluation of a microarray for the detection of ATP7B mutations in Wilson disease in China

Shi Yu Jia^{1,2,3} | Xiao Jin Li^{1,2,3} | Wei Zhang^{1,2,3} | Bei Zhang^{1,2,3} | Zhen Wu^{1,2,3} | Wei Jia Duan^{1,2,3} | Xianjuan Ou^{1,2,3} | Donghu Zhou^{1,2,3} | Jian Huang^{1,2,3,4}

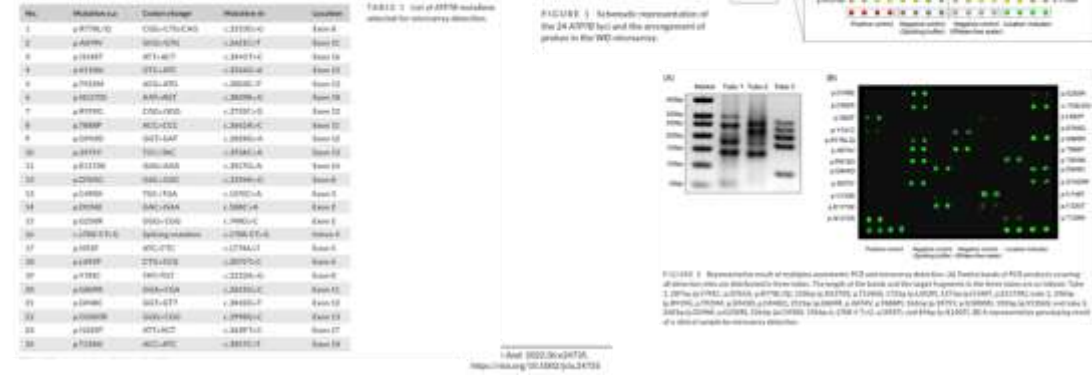


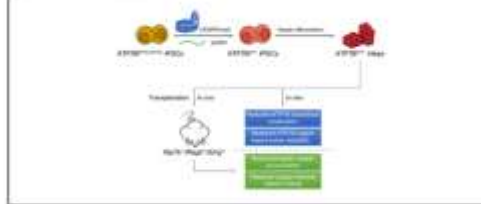
FIGURE 1 | Laboratory and clinical evaluation of a microarray for the detection of ATP7B mutations in Wilson disease in China

Microarray

Újdonságok a terápia terén

Újabb kelátképzők	Felfüggesztve	Nagy affinitással köti a rézt, élethosszig tartó kezelés
Bis-cholin TTM	Fejlesztés alatt	Intermittens terápiára alkalmas lehet.
Methanobactin		Képes a májparenchyma réztartalmának csökkentésére, az epén keresztüli kiválasztás fokozásával
Methylobacterium trichosporium OB3B által termelt peptid		
A kóros ATP7B farmakológiai módosítása	Fejlesztés alatt	Bizonyos mutációk esetén a nem megfelelő szerkezeti fehérjéket módosítja
Curcumin		
A sejt védelmére szolgáló mechanizmusok felerősítése	Fejlesztés alatt	X receptor-retinoid x receptor komplex – fibrosis és gyulladás mérték csökkentésével
Transzplantáció		
Cadaver donor; Élő donor (split)	Elérhető	A rézanyagcsere helyreáll; élethosszig tartó immunuszuppresszió szükséges;
Hepatocytá transzplantáció nem érintett donortól	Fejlesztés alatt	A donor lehetséges, hogy heterozygota
		Élethosszig immunuszuppresszió; több donorszemélyre is szükség lehet; ha a sejtek nem maradnak meg, akkor ismételt beültetésre lehet szükség; a donorsejtpool növelésre lenne szükség
Hepatocytá transzplantáció génmódosítással, hepatotrop vírusvektorokkal vagy géncsere (CRISPR)		Pluripotens őssejten vagy progenitorsejten a génlába juttatása, majd hepatocytába helyezése, vsz. nem szükséges élethosszig tartó immunuszuppresszió

CRISPR-targeted genome editing of human induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes for the treatment of Wilson's disease



Megbeszélés

A Wilson-kór sokszínű megjelenéséhez módosító gének (pl. ESD: esterase D, INO80), illetve epigenetikai változások (DNS metiláció, diéta stb.) is hozzájárulhatnak.

A metabolikusan asszociált szteatotikus kórképek kialakulásában szerepet játszó PNPLA3 gén mutációja súlyosabb mértékű szteatózishoz vezethet a Wilson-kóros betegek körében. Az aberráns homocisztein és metionin metabolizmus okozó MTHFR mutációk hatással lehetnek a rézfelhalmozódásra is.

Bár egyre nagyobb az érdeklődés, a genotípus-fenotípus eltérések, epigenetikai hatások felé, a mai napig nem sikerült meggyőző bizonyítékot találni ezen a téren.