

Szakmai Beszámoló – Magyar Állami Eötvös Ösztöndíj

Bevezetés: A szakmai kiküldetés célja a ritka örökletes immunhiányos betegségek, ezen belül a familiáris hemofagocitás limfoblastos limfocitózis (FHL) klinikai és laboratóriumi diagnosztikai vizsgálata volt. A hemofagocitás limfoblastos limfocitózis (HLH) egy kontrollálatlan gyulladásszerű mediátorok felszabadulásával járó, akár citokin viharba forduló, életet veszélyeztető immunhiányos betegség. Súlyos esetben többszervi elégtelenséghez, akár halálhoz vezethet. A kontrollálatlan gyulladásszerű mediátor termelés jellemzően a T- sejtek, valamint a makrofágok fokozott aktivációjával és szaporodásával jár, mely ismeretlen eredetű lázat, máj-és lépmegegyesülést, több sejttípust érintő citopéniát és központi idegrendszeri tüneteket eredményezhet. A HLH -szindrómában a T- és NK-sejtek normál működésének károsodása, akár teljes hiánya alakul ki. Ezen sejtpopulációk kiemelt szerepet játszanak a makrofágok aktivációjában, valamint az interferon (IFN)- gamma termelése által a vírusfertőzések elleni védekezésben. A citotoxikus T-sejtek (CTL) felelősek az antigént bemutató fertőzött sejtek elpusztításáért, valamint citotoxikus granulómák szekréciójáért. A HLH jellemző tünetei a a lépben, csontvelőben, májban, nyirokcsomókban látható hemofagocitózis, ismeretlen eredetű láz. Máj- vagy lépmegegyesülés, valamint a citopénia.

A HLH-t patogenezis szempontjából osztályozható elsődleges, avagy familiáris eredetűként, ahol a szindróma háttérben genetikai mutáció húzódik meg. HLH kialakulásához vezethet a PRF1, UNC13D, STX11, STXBP2 gének valamelyikén lévő káros mutáció, ezáltal károsítva a citotoxikus T- sejtek és NK- sejtek perforin termelését, avagy a perforint tartalmazó granulóma exocitózist. Genetikai háttér hiányában, másodlagos, infekció, tumoros betegség vagy autoimmun kórképhez asszociált HLH feltételezhető, a betegség klinikai tünetegyüttese nagy mértékben hasonlít az örökletes forma tünetegyüttesére. A HLH szerzett formájának kialakulásának háttérben sokszor vírusos fertőzések, így Epstein-Barr (EBV) vagy SARS-CoV-2 fertőzés is állhat.

Célkitűzések: A kutatómunka célja a Great Ormond Street Hospital intézményben kezelt, hemofagocitás limfoblastos limfocitózissal diagnosztizált betegek klinikai, laboratóriumi diagnosztikai és molekuláris genetikai eredményeinek statisztikai elemzése, így az egyes tünetek és diagnosztikai módszerek hatékonyságának vizsgálata volt.

Módszerek: A vizsgálat során 45 HLH gyanús beteg klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai eredményét értékeltük ki, A vizsgált populáció medián kora: 3 év (0-62 év), férfi-nő aránya 1:2 volt. A vizsgálat során a klinikai tüneteket és laboratóriumi paraméterekbeni eltéréseket vetettük össze a perforin expressziós értékeikkel, valamint a betegeknél azonosított PRF1 genetikai variációival. Az HLH klinikai manifesztáció súlyosságát az HLH-2004 protocol alapján osztályoztuk. A CD56+ természetes ölüsejtek (NK-sejtek) intracelluláris perforin expresszióját áramlási citometria segítségével vizsgáltuk. A vizsgált populációban felismert genetikai variánsokat az elérhető predikciós adatbázisok segítségével kategorizáltuk

patogenitás szerint, majd összevetettük a különböző patogenitási valószínűséggel rendelkező genetikai variánsok hatására kialakuló HLH manifesztáció súlyosságát.

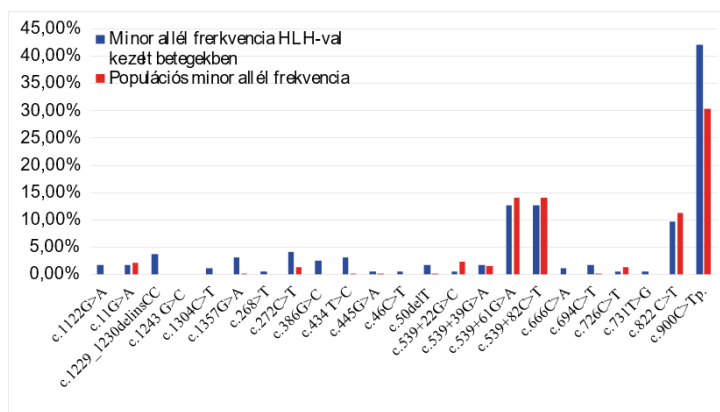
Eredmények: A vizsgált populációban a perforin gén benignus variációinak előfordulása nem mutatott statisztikailag szignifikáns eltérést az NCBI adatbázisban szereplő minor allél frekvenciáktól (**1. ábra**). A PRF1 károsító mutációval rendelkező betegek perforin expressziója hiányzott (5 beteg) vagy abnormálisan alacsony (3 beteg) volt és ezen betegek összességében több HLH kritérium tünetet mutattak (átlag: 5,15), mint a benignus variációval rendelkezők (átlag 3,71).

A benignusnak tartott variációval rendelkező betegek 33%-a felelt meg a HLH klinikai diagnózis kritériumainak, további 40% pedig 3 vagy 4 klinikai kritérium tünetet mutatott, valamint 70%-nak abnormálisan alacsony volt a perforin expressziója. 3 beteg nem teljesítette a HLH klinikai kritériumait, azonban abnormálisan alacsony perforin expressziójuk volt.

Összegzés:

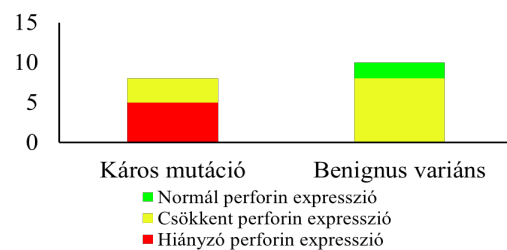
A hemofagocitászindrómában (HLH) a limfocitózis egy súlyos, akár életveszélyes kórállapot, mely a citotoxikus T- valamint NK sejtek ölfunkciójának zavarával jár. Patogenezis tekintetében lehet primer, genetikai károsodás révén kialakuló, vagy szekunder, melyben tumoros, vagy fertőzőes alapbetegség hatására alakul ki. Az ösztöndíj keretében megvalósuló kutatás során az Egyesült Királyságbeli Great Ormond Street Hospital Immunológiai Laboratóriumában a HLH-val diagnosztizált betegek klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai vizsgálatának eredményeit értékeltük ki. Eredményeink alapján a PRF1 gén káros mutációja jelentős perforin fehérje expresszió csökkenéssel jár, azonban a benignus variánst hordozó páciensek többségében is csökkent volt a fehérjetermelés.

Ezen eredmények alapján a perforin fehérje szint vizsgálata jelentős paraméter a HLH diagnózis felállításában. A kiutazás során jelentős szakmai kapcsolatokat sikerült kiépíteni. Az ösztöndíj keretein belül megvalósult kutatás folytatását tervezzük, melyben a szekunder HLH ban szenvedő betegeknél kívánjuk vizsgálni ezen paramétereket.



1. ábra: Minor allél frekvencia a vizsgált betegpopulációban normál populációhoz viszonyítva

A vizsgált populációban felismert PRF1 variánsok allélfrekvenciája nem tér el jelentős mértékben az átlag populációban leírt allél frekvenciához képest.



2. ábra: Perforin expresszió káros mutáció és benignus variáns jelenlétében

A vizsgált populációban a káros variánsokat hordozó egyéneknél jellemzően alacsonyabb volt a perforin expressziója, mint a benignus variánst hordozó egyéneknél.