

# A magyar Cystás Fibrosis Regiszter genetikai revíziója

Deák Anna dr.<sup>1</sup> ■ Koczok Katalin dr.<sup>1</sup> ■ Bessenyei Beáta dr.<sup>1</sup>  
 Szűcs Zsuzsanna<sup>1</sup> ■ Madar László<sup>1</sup> ■ Csorba Gabriella<sup>1</sup> ■ Orosz Orsolya dr.<sup>1</sup>  
 Laki István dr.<sup>2</sup> ■ Halász Adrien dr.<sup>3</sup> ■ Marsal Géza<sup>4</sup> ■ Balogh István dr.<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Genetikai Tanszék, Debrecen

<sup>2</sup>Tüdőgyógyintézet Törökbálint, Gyermekosztály, Törökbálint

<sup>3</sup>Országos Korányi Pulmonológiai Intézet, Cisztás Fibrózis Részleg, Budapest

<sup>4</sup>Cisztás Fibrózis Betegek Egyesülete, Budaörs

<sup>5</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Humángenetikai Tanszék, Debrecen

**Bevezetés:** A cystás fibrosis (CF) az egyik leggyakoribb monogénes betegség. A genetikai vizsgálat a kóros mutációk kiderítésével a diagnózis felállításához, illetve megerősítéséhez egyre inkább elengedhetetlenné válik. A magyar CF-betegek genetikai revízióját a kornak megfelelő diagnosztikai stratégia kialakítása tette szükségessé. Ezt a törekvést később kiegészítette a CF-ben alkalmazható mutációspecifikus kezelés elvárása, mely genetikai alapokon nyugszik.

**Céltűzés:** A munkacsoport célként tűzte ki a magyar Cystás Fibrosis Regiszterben nyilvántartott betegek genetikai adatainak revidálását, illetve átfogó genotípus-elemzését.

**Módszer:** A revízió során összesen 582 (528, regiszterben szereplő és 54, a revízió ideje alatt érkezett) beteg adataival, illetve mintáival dolgoztunk. A meglévő leletek áttekintése után, amennyiben azok nem igazolták a CF diagnózist, a *CFTR*-gén háromszintű genetikai analízisét végeztük el.

**Eredmények:** A regiszterben szereplő 528 vizsgált beteg közül 395 (74,8%) esetében sikerült igazolni mindkét kóros variánst. Vizsgálataink felderítették, illetve javították 94, korábban 1 mutációval rendelkező vagy kimutatott mutációval nem rendelkező beteg genetikai státuszát is. Összesen 73 különböző mutációt detektáltunk, melyek között egy korábban még nem közölt, patogén eltérést is leírtunk (c.3130G>A). Az első öt leggyakoribb mutáció a hazai populációban: F508del (68,4%); *CFTR*dele2,3 (3,7%); G542X (3,2%); 2184insA (2,7%); W1282X (2,3%). Genotípus és életkor alapján 211 beteget találtunk alkalmasnak a lumacaftor–ivacaftor kombinált készítményre és 361-et az ivacaftor–tezacaftor–elxacaftor terápiára, melyek már hazánkban is elérhetők.

**Következtetés:** A revízió eredményeképpen felismerésre kerültek azok a betegek, akik tüneti terápia helyett a mutációspecifikus gyógyszereknek köszönhetően oki terápiában részesülhetnek. Emellett a meglévő eredmények alapján sikerült feltérképezni a *CFTR*-gén mutációinak hazai megoszlását, ami segít a diagnosztikus stratégia kialakításában.

Orv Hetil. 2022; 163(51): 2052–2059.

**Kulcsszavak:** cystás fibrosis, kóros variáns, monogénes betegség, mutációspecifikus kezelés

## Genetic revision of the Hungarian Cystic Fibrosis Registry

**Introduction:** Cystic fibrosis (CF) is one of the most common monogenic diseases. Genetic testing is becoming increasingly reasoned to establish or confirm the diagnosis by detecting abnormal mutations.

**Objective:** In order to develop a diagnostic strategy for cystic fibrosis and to facilitate mutation-specific treatments, the genetic revision of the Hungarian Cystic Fibrosis Registry was performed.

**Method:** 582 patients' data and samples were used for the revision (528 originally included in the register and 54 received during the revision). First we reviewed the patients' existing genetic findings. Wherever necessary, a comprehensive three-level genetic analysis of the *CFTR* gene was done.

**Results:** According to our study, of the 528 patients present in the Registry, 395 (74.8%) had 2 pathogenic *CFTR* mutations. We completed and corrected 94 patients' previously incomplete genetic status. 73 different pathogenic variants were described, in which 1 aberration was not previously reported (c.3130G>A). The 5 most common mutations were: F508del (68.4%); *CFTR*dele2,3 (3.7%); G542X (3.2%); 2184insA (2.7%); W1282X (2.3%). Based on genotype and age, in Hungary 211 patients are eligible for the available lumacaftor–ivacaftor combination therapy, and 361 patients for the ivacaftor–tezacaftor–elxacaftor therapy.

**Conclusion:** Due to the revision, we could identify the patients who can benefit from mutation-specific drugs instead of symptomatic therapy. In addition, the data obtained have been used to map the Hungarian distribution of mutations in the *CFTR* gene, which will help to develop a diagnostic strategy.

**Keywords:** cystic fibrosis, causative variant, monogenic disease, mutation-specific treatment

Deák A, Koczok K, Bessenyei B, Szűcs Zs, Madar L, Csorba G, Orosz O, Laki I, Halász A, Marsal G, Balogh I. [Genetic revision of the Hungarian Cystic Fibrosis Registry]. *Orv Hetil.* 2022; 163(51): 2052–2059.

(Beérkezett: 2022. augusztus 31.; elfogadva: 2022. október 6.)

### Rövidítések

ABC = (ATP-binding cassette) ATP-kötő kazetta; ACMG = (American College of Medical Genetics and Genomics) Amerikai Klinikai Genetikai és Genomikai Szakmai Kollégium; ATP = (adenosine triphosphate) adenosin-trifoszfát; CF = cystás fibrosis; CFBE = Cisztás Fibrózis Betegek Egyesülete; CFSPID = (cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis) cystás fibrosis szűrésre pozitív, inkonkluzív diagnózissal; CFTR = (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) cystás fibrosis transzmembrán konduktancia regulátor; CFTR-RD = (CFTR-related disorder) CFTR-rel összefüggő betegség; CRMS = (CFTR-related metabolic syndrome) CFTR-vel összefüggő metabolikus szindróma; ECFS = Európai Cystás Fibrosis Társaság; HGMD = (Human Gene Mutation Database) Emberi Génmutációs Adatbázis; IRT = immunreaktív tripszinogén; MLPA = multiplex ligatiofüggő próbaamplifikáció; NGS = (next-generation sequencing) újgenerációs szekvenálás; PAP = pancreatitisasszociált protein; PCR = (polymerase chain reaction) polimeráz-lánreakció; VUS = (variants of uncertain/unknown significance) bizonytalan/ismeretlen jelentőségű variáns

A cystás fibrosis (CF) az egyik leggyakoribb, életet rövidítő monogénes recesszív kórkép a kaukázusi populációban: itt minden 27. ember egy kóroki mutáció hordozója, és minden 2000–3000 élve születésre jut egy érintett eset [1]. Az Európai Cystás Fibrosis Társaság (ECFS) 2022-ben közzétett, 2020. évi adatokat feldolgozó betegregisztere Európában 52 246 beteget tart számon [2].

A betegség a 'cystic fibrosis transmembrane conductance regulator' (*CFTR*-) gén mutációjának következtében alakul ki. A gén által kódolt *CFTR*-fehérje az ABC-transzporterek családjába tartozó ún. kloridion-csatorna. A kórképben a fehérje defektusa miatt a sejtmembrán kloridion-transzportja zavart szenved, ami miatt a külső elválasztású mirigyek sűrű, tapadós, viszkózus váladékot termelnek. A betegségben elsősorban a *CFTR*-fehérjét kifejező szervek (például tüdő, hasnyálmirigy, vas deferens, gastrointestinalis és hepatobiliaris rendszer) érintettek, azonban a klinikai tünetek súlyossága, spektruma az adott betegre jellemző [3]. A betegség autoszomális recesszív öröklődésmenetet mutat, a két öröklött kóroki variáns lehet azonos (homozigóta) vagy eltérő (összetett heterozigóta) [1]. A *CFTR*-génben eddig több mint

2000 különböző mutációt azonosítottak, melyek előfordulása és eloszlása populáció- és etnikumfüggő. A kaukázusi populációban a leggyakoribb a c.1521\_1523delCTT eltérés, azaz a fehérjében az 508. aminosav, a fenil-alanin deletiója, mely az ECFS-regiszter szerint Európában 39 405 betegnél, a nyilvántartottak 80,7%-ában az egyik kóroki eltérést jelenti. A mutációk legnagyobb része azonban kevesebb mint 1/1000 gyakorisággal fordul elő [1, 2].

A *CFTR*-gén eltéréseit többféleképpen kategorizálhatjuk. Az egyik a monogénes betegségek genetikai tesztelésekor általánosan használt, az Amerikai Klinikai Genetikai és Genomikai Szakmai Kollégium (ACMG) által javasolt klasszifikáció, mely az eltérés patogenitásának megítélésére szolgál, így segít a CF diagnózisának felállításában. Eszerint megkülönböztetünk patogén (az eltérés patogenitásának valószínűsége >99%), valószínűleg patogén (az eltérés patogenitásának valószínűsége >90%), benignus, valószínűleg benignus kategóriát és egy olyan csoportot, amely azokat az eltéréseket tartalmazza, melyek elegendő klinikai bizonyíték hiányában még nem csoportosíthatók az előző kategóriák egyikébe se. Ezeket az angol megnevezés után (variants of uncertain/unknown significance) VUS-nek rövidítjük [4].

Egy másik lehetőség a mutációkat aszerint osztályozni, hogy azok milyen módon befolyásolják a *CFTR*-fehérjét, érését és funkcióját. Eszerint hat osztályt lehet megkülönböztetni. Az első osztályba tartozó mutációk a fehérje translációját, a másodikba tartozók a fehérje érését zavarják meg. A harmadikba kategorizálható eltérések a membránban lévő fehérje szabályozásának sérüléséhez, a negyedikbe tartozók pedig a csatorna csökkent konduktanciájához vezetnek. Az ötödik és a hatodik csoportba sorolt variánsok pedig a membránban lévő csatorna mennyiségét, illetve felezési idejét csökkentik. Mivel általánosságban elmondható, hogy nagy részben az egyén által hordozott mutáció határozza meg a klinikai tünetek súlyosságát, ez az osztályozási módszer segítségével nyújthat a betegség várható súlyosságának, progressziójának megítélésében. Tekintve azonban, hogy a specifikus variánsok kombinációja esetén a klinikai prognózis nehezen jósolható meg, a gyakorlatban az osztályozásnak inkább a *CFTR*-modulátor-terápiák kifejlesztésénél és ezek indikációjának meghatározásakor vették és veszik hasznát [1, 5–8].

Ezek a molekulák négy nagy csoportba sorolhatók annak alapján, hogy milyen mechanizmus szerint javítanak a CFTR-protein diszfunkcióján: elkülöníthetünk olyan molekulákat, melyek a korai stop kodon helyett aminosav beépítését segítik elő (ataluren), ezáltal az I. kategóriába eső variánsok esetén kísérlik meg javítani a translációt; korrektorokat (lumakaftor, tezakaftor, elexakaftor), melyek a fehérje processzáálásában, membránba jutásában segítenek, így II. osztályban lévő variánsok esetén alkalmazható molekulák; potencírozókat (ivakaftor) és stabilizátorokat (cavosonstat), amelyek pedig az ioncsatorna stabilitására és funkciójára hatva a III. és IV. csoportba tartozó CFTR-variánsok esetén jelenthetnek hatásos terápiát [8]. Ezen szerek közül megfelelő hatásosság híján természetesen nem mind jutott el a betegekhez.

2012 óta eddig négy készítmény került forgalomba közülük – az ivakaftor-monoterápia, a lumakaftor–ivakaftor, a tezakaftor–ivakaftor és az ivakaftor–tezakaftor–elexakaftor kombinációk –, és alkalmazhatók azoknál a betegeknél, akik mindamellet, hogy megfelelnek az aktuális életkorra vonatkozó korlátozásnak, olyan CFTR-variánst hordoznak, amelyre az adott gyógyszer hatékonysága klinikailag igazolt [8]. Az összes gyógyszer törzskönyvezett. A magyar betegek számára jelenleg a lumakaftor–ivakaftor és az ivakaftor–tezakaftor–elexakaftor kombináció érhető el egyedi méltányosság keretei között [9, 10].

Habár, mint azt az eddig leírtak is mutatják, egyre többet tudunk a betegség genetikai hátteréről, jelenleg a CF diagnosztizálható genetikai vizsgálat nélkül is [11]. Az amerikai Cystic Fibrosis Foundation aktuális ajánlása szerint a kórisme két szempont alapján állítható fel. Egyrészt legalább egy állításnak igaznak kell lennie az egyént illetően: pozitív újszülöttkori szűrési teszt; CF-re pozitív családi anamnézis; egy vagy több tipikus, CF-re utaló tünet, másrészt a CFTR-fehérje defektusát objektív vizsgálat eredményének is igazolnia kell. Ez utóbbi azonban nem kötelezően genetikai vizsgálat (azaz a transzhelyzetben lévő két patogén CFTR-variáns kimutatása), a gyakorlatban első vonalbeli tesztként a verejték kloridion-koncentrációjának mérésével történik, mely diagnosztikus, ha eléri vagy meghaladja a 60 mmol/l-t [12]. Megemlítendő, hogy a diagnózis felállítása még így sem minden esetben egyértelmű. Azoknál a betegeknél, akiknél csak egy szervrendszerre korlátozódnak a tünetek, és csekély evidenciával rendelkeznek a CFTR-fehérje diszfunkciójáról, a 'CFTR-related disorder' (CFTR-RD), azaz a CFTR-csatornával összefüggő betegség a megfelelő diagnózis. Egy másik, CF-hez kapcsolódó fogalom még a CFTR-csatornával összefüggő metabolikus szindróma (CRMS), európai megnevezéssel a „CF screen positive, inconclusive diagnosis” (CFSPID), mely átmeneti diagnózis azoknak a még tünetmentes újszülötteknek, akiknél a pozitív újszülöttkori szűrési teszt ellenére a CF diagnózist objektív vizsgálati eredménnyel még nem sikerült alátámasztani [12]. A CF mint az egyik legjobban kutatott genetikai beteg-

ség számos olyan aspektussal bír, amely más, kevésbé ismert monogénes betegségek esetén is jól használható tanulságokkal szolgál.

## Célkitűzés

Munkacsoportunk 2018 májusában a magyarországi Cisztás Fibrozis Betegek Egyesületének (CFBE) kérésére és közreműködésével kezdte meg a magyarországi CF Regiszter genetikai revízióját, amelyen az adatbázisban nyilvántartott betegek genetikai adatainak revidálása, illetve genotípus-elemzése értendő. A kutatócsoport célként tűzte ki a regiszter ilyen szempontból történő pontosítását és/vagy kiegészítését. Egyrészt azért, hogy a CFTR-gén hazai mutációs spektrumát meghatározza a diagnosztikus stratégia korszerűsítéséért, másrészt pedig azért, hogy azonosítsa azokat a betegeket, akik genotípusuk alapján alkalmasak a Magyarországon már elérhető, valamint a várhatóan elérhető mutációs specifikus CFTR-modulátor-terápiákra. Munkánk befejezését követően indult el a CF hazai újszülöttkori szűrővizsgálata, így eredményeink azonnal transzlálódó klinikai jelentőséggel is bírnak.

## Betegek és módszer

### *A magyar CF Regiszter*

A hazai CF-ellátást reprezentáló betegadatbázis 2008-ban a CFBE kezdeményezésére a kezelőorvosok és az ellátóhelyek munkájának köszönhetően jött létre. A regiszterbe azóta évenként gyűjtik az ország összes, CF-beteget gondozó és ellátó intézménye által küldött, az európai betegadatbázisban is definiált paramétereket, adatokat [13].

### *A vizsgált populáció*

A revízió során összesen 582 beteg adataival, illetve mintáival dolgoztunk. 528 beteg szerepelt 2018-ban a CF Regiszterben, mely adatbázist a CFBE által annak adminisztrátora bocsátotta rendelkezésünkre. A regiszterből hiányzó adatokat és a szükséges korábbi genetikai leleteket a betegek kezelőorvosaitól kaptuk meg. A regiszterben szereplő betegeken túl a revízió ideje alatt további 54 betegnél támasztottuk alá genetikai eredménnyel a klinikai diagnózist a Debreceni Egyetem Klinikai Genetikai Tanszékén. Az ő adataikat a vizsgálatkérő dokumentumok tartalmazták.

### *Metodika: első lépés – leletáttekintés*

A kutatást az 528 beteg csoportosításával kezdtük meg. A regiszterben szereplő adatok alapján csoportosítottuk a betegeket aszerint, hogy hány, igazoltan CF-et okozó variánst írtak le korábban. Létrehoztunk egy „2 kimuta-

tott mutációval rendelkező”, egy „1 kimutatott mutációval rendelkező”, egy „Kimutatott mutációval nem rendelkező” csoportot, valamint egy „Leletből nem egyértelmű genetikai statusú” kategóriát is. Az utóbbi csoportra azért volt szükség, mert több beérkező leletben a beteg genotípusát vagy nem a hagyományos nomenklaturák valamelyikét követve, vagy nem a szakma szabályainak megfelelően írták le, így azok értelmezése nehézségekbe ütközött.

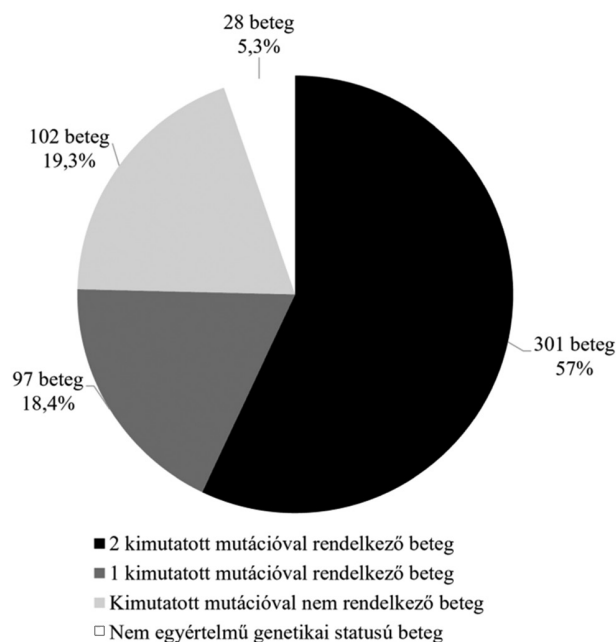
Annál a 301 betegnél, akinél a regiszterben korábban már rögzítésre került két patogén *CFTR*-variáns, további teendő nem volt, hiszen az ő genotípusukat a regiszter alapján hitelesnek tekintettük. A másik három csoportba került 227 beteg korábbi genetikai eredményeit áttekintettük, és a leletek függvényében a mintákat komplex genetikai analízisnek vetettük alá.

### Metodika: második lépés – genetikai vizsgálatok

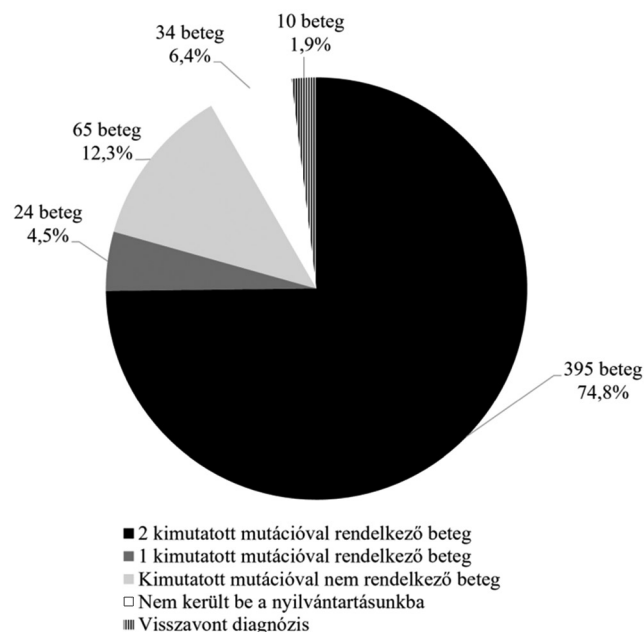
A revízió genetikai részét háromlépcsősnek terveztük. Amennyiben a betegnek volt korábbi vizsgálata/vizsgálatai, azt nem ismételtük meg, csupán kiegészítettük. Első vonalbeli tesztként *CFTR*-mutáció-panelt alkalmaztunk. A projekt kezdetén az Elucigene CF29v2 kitet (Elucigene Diagnostics, Manchester, Egyesült Királyság) használtuk, mely allélspecifikus PCR, és a kaukázusi populációban leggyakoribb mutációk kimutatására alkalmas. Ezt kiegészítettük még a hazánkban nagy frekvenciával előforduló *CFTR*dele2,3, más néven a szláv deletio vizsgálatával, így a panel szenzitivitását 80,6%-ra növeltük [14]. A revízió közben azonban elérhetővé vált, és így áttértünk a nagyobb szenzitivitású, több mutációt lefedő Devyser *CFTR* Core panel (Devyser, Stockholm, Svédország) használatára. Amennyiben nem találtuk meg mindkét kóroki eltérést, következő lépésként elvégeztük a teljes *CFTR*-gén Sanger-, illetve újgenerációs szekvenálását (NGS), mivel ezek a módszerek alkalmasak a ritkább variánsok kimutatására is. Az általunk használt Devyser *CFTR* Core kit vizsgálta a *CFTR*-gén teljes kódoló régióját, az exon–intron határokat, a promóter régiót és néhány klinikailag releváns mély introni mutációt is. A kit deletiospecifikus primereket is tartalmazott a gyakoribb, nagy kópiaszám-variánsok analízisére, emellett alkalmas volt lefedettség alapú kópiaszámbeli eltérések analízisére is [15]. Az NGS esetén a NextGENe programot (SoftGenetics, State College, PA, USA) alkalmaztuk kiértékelő szoftverként. Végül, ha még így sem sikerült mindkét, CF-et okozó mutációt detektálni, és a beteg revízió előtti szekvenálása nem a fentebb említett Devyser-kittel történt, multiplex ligatiofüggő próbaamplifikációt (MLPA) alkalmaztunk az esetleges kópiaszám-variánsok igazolására. Mindezek után a revízió ideje alatt aktuális ajánlásoknak megfelelően minden detektált, kis skálájú mutációt megerősítettük Sanger-szekvenálással.

Összességében a projekt során 24 esetben végeztünk allélspecifikus PCR-t, 109 esetben NGS-t és 23 beteg esetében MLPA-t.

A detektált *CFTR*-variánsok patogenitását a Human Gene Mutation Database (HGMD) Professional (2020.4-es verzió) és a cftr2.org-on található információk szerint állapítottuk meg. A szakirodalomban eddig nem közölt új *CFTR*-variáns kóroki szerepének megítélésére – a mutáció típusából és az esetleges filogenetikailag konzervált elhelyezkedésből levonható következtéseken túl – számos egyéb program, algoritmus és adatbázis állt rendelkezésünkre. Ezek közül a legjelentősebb a Mutation Taster, a gnomAD, a Human Splicing Finder, az UMD Predictor és a PolyPhen-2 volt [16–20].



1. ábra | A 2018 márciusában a regiszterben szereplő betegek csoportosítása és százalékos megoszlásuk



2. ábra | A revízió utáni, 2021 novemberében készült kategorizálás és megoszlás

## Eredmények

### A regiszter változása

A 2018-ban aktuális regiszterben szereplő betegek csoportosítását és a revízió utáni, 2021 novemberében készült kategorizálást összefoglalóan az 1. és a 2. ábra szemlélteti. A revízióknak köszönhetően a regiszter sok esetben nemcsak kiegészítésre, de javításra is került, melyet az 1. táblázat részletez, ami a következőképpen foglalható össze: a vizsgált 227 beteg közül 94, korábban genetikailag nem igazolt betegnél mutattuk ki a 2 patogén eltérést. 24 esetben csak 1 kóroki variánst detektáltunk, 65, a regiszterben szereplő betegnél pedig nem találtunk patogén *CFTR*-variánst. 10 betegnél a klinikus a genetikai vizsgálat eredményének tudatában visszavonta a diagnózist, így az érintettek kikerültek az adatbázisból. A betegszerkezet és a klinikusi összefogás ellenére 34, a regiszterben szereplő beteg lelete és mintája nem

1. táblázat | A regiszterben szereplő betegek kategorizálása és annak változása a revízió során

2018. május		2021. november	
Kategória	Betegszám	Kategória	Betegszám
2 kimutatott mutációval rendelkező beteg	301	2 kimutatott mutációval rendelkező beteg	395
1 kimutatott mutációval rendelkező beteg	62		
Kimutatott mutációval nem rendelkező beteg	18		
Nem egyértelmű genetikai statusú beteg	14		
1 kimutatott mutációval rendelkező beteg	17	1 kimutatott mutációval rendelkező beteg	24
Kimutatott mutációval nem rendelkező beteg	3		
Nem egyértelmű genetikai statusú beteg	4		
1 kimutatott mutációval rendelkező beteg	1	Kimutatott mutációval nem rendelkező beteg	65
Kimutatott mutációval nem rendelkező beteg	59		
Nem egyértelmű genetikai statusú beteg	5		
1 kimutatott mutációval rendelkező beteg	15	Nem került be a nyilvántartásunkba	34
Kimutatott mutációval nem rendelkező beteg	16		
Nem egyértelmű genetikai statusú beteg	3		
1 kimutatott mutációval rendelkező beteg	2	Visszavont diagnózis	10
Kimutatott mutációval nem rendelkező beteg	6		
Nem egyértelmű genetikai statusú beteg	2		

érkezett be nyilvántartásunkba, így ezeknek a betegeknek a vizsgálata nem történt meg. Idetartoznak azok az esetek is, amelyeknél a beteg időközben elhunyt.

### Az újonnan igazolt esetek kimutatásának metodikája

A kutatás végén a 395 „2 kimutatott mutációval rendelkező”, tehát genetikailag is igazolt CF-beteg diagnosztizálását illetően összefoglalóan elmondható: 50 esetben csupán a beteg korábbi genetikai leleteinek áttekintése is javította, értelmezhetővé tette a statuszt, így kerültek át az érintettek ebbe a kategóriába. 44 esetben igényelt ez további genetikai tesztelést, melyek közül 7 esetben mutációpanellel, 35 esetben *CFTR*-gén-szekvenálással, 2 esetben pedig MLPA-val sikerült mindkét kóroki variánst kimutatni. (Mint korábban már leírtuk, 301 beteg pedig eredetileg is így szerepelt a regiszterben.)

### A hazai kóroki *CFTR*-variánsok és megoszlásuk

Az adatbázisban szereplő betegek vizsgálata során összesen 817 mutációt detektáltunk. A kimutatott 73 különböző típusú patogén mutáció között találtunk egy, az irodalomban még nem közölt patogén eltérést is: a c.3130G>A (p.Glu1044\*) mutációt, mely korai stopkódot idéz elő.

A leggyakoribb mutáció a hazai CF-populációban is a F508del (68,4%), 193 beteg homozigóta, 173 beteg heterozigóta erre a mutációra. A következő leggyakoribb mutációk egy nagyságrenddel alacsonyabb frekvenciával fordulnak elő. A magyar populáció igazolt *CFTR* kóroki variánsait és százalékos megoszlásukat a 2. táblázat tartalmazza.

### A *CFTR*-modulátor-terápiára alkalmas betegek

Sikerült azonosítani azokat a betegeket, akik olyan mutációval rendelkeznek, amelyre már elérhető *CFTR*-modulátor-készítmény. Az eredmények összegzésének ebben a részében a 395 „2 mutációval rendelkező” beteg mellé hozzávettük a revízió ideje alatt érkező 54 beteget is, akiknél 2 patogén *CFTR*-variánst mutattunk ki. A gyártó által leírt aktuális kezelési útmutató szerint a készítmények érvényben lévő, életkorra vonatkozó korlátozásait is figyelembe véve a hazai CF-populációban 449 beteg közül 42 beteg (9,4%) alkalmas az ivakaftor-monoterápiára, 211 beteg (47%) a lumakaftor-ivakaftor kombinációra, 372 beteg (82,9%) a tezakaftor-ivakaftor kombinációra és 370 beteg (82,4%) az ivakaftor-tezakaftor-elexakaftor hármas kombinált készítményre. Megjegyzendő, hogy az Európai Gyógyszerügynökség által kiadott engedélyekben azoknak a mutációknak a listája, amelyek esetében a gyógyszerek alkalmazását engedélyezték, rövidebb, mint ahogy az adott készítmény hasz-

2. táblázat | A magyar populációban kimutatott *CFTR* kóroki variánsok hagyományos nevezéktana, annak hiányában cDNS szerint, és százalékos megoszlásuk

<i>CFTR</i> -variáns	Százalékos megoszlás	<i>CFTR</i> -variáns	Százalékos megoszlás
F508del	68,30%	1716G/A	0,12%
CFTRdele2,3	3,69%	L101X	0,12%
G542X	3,19%	G576A	0,12%
2184insA	2,70%	R334Q	0,12%
W1282X	2,33%	1717-8G->A	0,12%
N1303K	2,09%	1037insA	0,12%
R553X	1,60%	182delT	0,12%
2143delT	1,23%	1898 + 1G->A	0,12%
E831X	0,98%	c.1745C>T	0,12%
S466X	0,86%	CFTRdele2	0,12%
1717-1G->A	0,86%	A72D	0,12%
R347P	0,74%	3659delC	0,12%
2789 + 5G->A	0,61%	K95E	0,12%
3849 + 10kbC->T	0,61%	c.1394C>T	0,12%
M1101K	0,61%	R75X	0,12%
621 + 1G->T	0,37%	5T; TG12*	0,12%
I336K	0,37%	875+1G->A	0,12%
3272-26A->G	0,37%	R352Q	0,12%
R1066C	0,25%	711+3A->G	0,12%
CFTRdele17a-18	0,25%	R347H	0,12%
2184delA	0,25%	CFTRdele25,26	0,12%
2723delTT	0,25%	c.3130G>A	0,12%
3905insT	0,25%	c.490-1G>C	0,12%
1249-1G->A	0,25%	W1274X	0,12%
c.2951A>T	0,25%	CFTRdele19-21	0,12%
D1152H	0,25%	3850-3T->G	0,12%
Q220X	0,25%	c.3580_3582insAG	0,12%
R1162X	0,25%	c.822delA	0,12%
457TAT->G	0,25%	C524X	0,12%
G178R	0,25%	c.2591_2592delTT	0,12%
712-1G->T	0,25%	185+1G->T	0,12%
Y1092X	0,25%	S945L	0,12%
L1414S	0,12%	R668C	0,12%
2183AA->G	0,12%	S1196X	0,12%
c.1313insA	0,12%	G85E	0,12%
M952I	0,12%	R1070Q	0,12%
G126D	0,12%		

cDNS = komplementer DNS; *CFTR* = cystás fibrosis transzmembrán konduktancia regulátor

\*Egy patogén transzhelyzetű variánssal, klinikai tünetekkel rendelkező betegen.

nálatti útmutatójában szerepel, így eszerint azoknak a betegeknek a száma is kevesebb, akik a terápiákban részesülhetnek: ivakaftor esetében 4 betegre (0,9%), a tezaftor-ivakaftor kombináció esetében 201-re (44,8%) és az ivakaftor-tezaftor-elexaftor terápiát illetően 361 betegre (80,4%) módosul.

## Megbeszélés

A revízió eredményeinek áttekintése a *CF* diagnosztikája, szűrése és terápiája szempontjából is lényeges.

### Diagnosztika

Látva azt, hogy a revíziót követően a regiszterben a betegek közel 17%-ának diagnózisát a legkorszerűbb molekuláris biológiai módszerek alkalmazása mellett sem sikerült genetikailag alátámasztani, és hogy a verejték kloridion-koncentrációja és a *CFTR*-status 59 beteg esetében ellentmondásos, a betegség diagnosztizálásával kapcsolatban felmerül a kérdés: a már jelenleg is elérhető, szenzitív, modern genetikai vizsgálatok mellett korszerű-e mellőzni a monogénes betegségek egyik mintapéldájánál a klinikai diagnózist nem igazoló genetikai eredményt?

Eltételezve attól a lehetőségtől, hogy a regiszter esetleg hibás adatokat tartalmazott, a felvetéssel kapcsolatban tudni kell, hogy az alkalmazott genetikai tesztek szenzitivitása ugyan közelíti, de nem éri el a 100%-ot, és habár a betegség genetikai hátteréről már sokat tudunk, tudásunk még messze nem teljes. Erre a genotípus-fenotípus korrelációban tapasztalt génmódosítók szerepének felismerése és kutatása csak egy példa, sokkal fontosabb az újabb és újabb patogén variánsok kimutatása és a VUS-ek jelenléte [21, 22].

Az általunk azonosított ellentmondásos eredményű betegek tüneteinek követése lehetőséget jelenthet a betegséggel kapcsolatos tudásunk bővítésére. Elegendő tudással rendelkezve a jövőben a 2 transzhelyzetű patogén variáns talán egyedüli kritériumként is megállja a helyét, és segít megszüntetni a CFSPID és *CFTR*-RD diagnózisokat is.

A nagyszámú (50), csupán megfelelő interpretációval besorolást váltó lelet a hazai klinikai gyakorlat súlyos hiányosságára hívja fel a figyelmet. Ugyan a 2008. évi XXI. törvény előírja a pre- és poszttestet genetikai tanácsadást (6. §), a klinikai ellátóhelyek nagy részének klinikai genetikai szakorvos nem áll rendelkezésére. Így fordulhat elő, hogy sem a genetikai lelet megfelelő interpretációjára, sem a vér szerinti rokonok célzott, ún. kaszkádvizsgálatára esetenként nem kerül sor.

### Újszülöttkori szűrés

Az újszülöttkori szűrés a betegség korábbi felismerése miatt korábbi intervenciót és kezelést tesz lehetővé, ami jobb életkilátásokat eredményez. Ezt számos olyan vizsgálat igazolja, mely a szűréssel felismert és a klinikai tünetek megjelenése után diagnosztizált betegek mortalitását, pulmonalis funkcióit, növekedési és neurokognitív paramétereit hasonlítja össze [23–27]. Éppen ezért öröndetes, hogy a sikeres pilotprogramot követően a 2022. évtől Magyarország is bevezette a *CF*-et az újszülöttkorban szürendő betegségek közé [28].

A újszülöttkori szűrés metódusa országonként eltérő, de általánosságban elmondható, hogy két- vagy háromszintű: az immunreaktív tripszinogén (IRT) és/vagy a pancreatitisasszociált protein (PAP) szérumszintjének meghatározásából, valamint a diagnosztizálásba átlépvé az adott populációban leggyakoribb *CFTR*-mutációkat lefedő genetikai vizsgálat elvégzéséből, egyes helyeken a *CFTR*-gén szekvenálásából áll [29]. Magyarországon a szűrés és a diagnosztizálás metódusát háromlépcsősnek tervezték: biokémiai tesztből (IRT és PAP), a verejték kloridion-koncentrációjának meghatározásából és annak eredményétől függően genetikai tanácsadással egybekötött genetikai vizsgálatból áll, mely utóbbit a Debreceni Egyetem végzi országosan.

A diagnosztizálás genetikai ága nemcsak a költséghatékonyság miatt volt kérdés. A génszekvenálás ugyan szenzitívebb, hiszen a ritkább variánsok detektálására is alkalmas, de első vonalbeli tesztként óhatatlanul megemeli a nem interpretálható VUS-ek számát. Habár ez az érintett klinikai állapotát követve további tudáshoz vezetheti a kutatókat, potenciálisan hosszú ideig tartó, nagymértékű bizonytalanságba taszítja az érintett családokat. Így az ECFS-ajánlásnak megfelelő, a CF-populáció >96%-ában legalább 1 abnormális allélt kimutató mutációpanel alkalmazása mellett döntöttünk [30].

A regiszterben szereplő betegek alapján feltérképeztük a *CFTR*-gén mutációinak hazai spektrumát, mely alapot jelentett a szűrés során alkalmazandó genetikai panel alkalmasságának megállapításához.

## Terápia

A monogénes betegségek kezelése, különösen gyógyítása igen nehéz feladat. Ugyan napjainkban is fejlesztenek az eddigiéknél hatékonyabb antibiotikumokat, antiinfektív, antiinflammatorikus, mukolitikus, tápláltsági állapotot javító szereket, ezek nem jelentenek oki terápiát [31]. A kiváltó (genetikai) ok megismerése nyit utat új kezelési stratégiáknak, azaz teszi lehetővé a *CFTR*-fehérje funkciójának helyreállítását, melyet elviekben *CFTR*-modulátorokkal és génterápiával lehet kivitelezni. A sokakat érdeklő génszerkesztésnek azonban számos technikai nehézséget kell megoldania, mint például a géntranszfervektorok hatékonyságának javítása, a megfelelő progenitor sejtek elérése, a transzgen expressziójának meghosszabbítása, a vírusvektorral szembeni immunválasz csökkentése és az egyéb helyen okozott mutagenézis elkerülése [32]. Jelenleg csak egy gyógyszerjelölt, egy inhalatív, adenotársultvírus-vektoron alapuló készítmény van a klinikai I. fázisban [33]. A minden CF-betegnél alkalmazható, gyógyulást jelentő terápia kifejlesztésében a modern génszerkesztő technikák gyors fejlődést jelenthetnek, azonban a gyógyszerjelöltek és a már elérhető gyógyszerek száma alapján jelenleg ennek megvalósulását a *CFTR*-modulátoroktól remélhetjük [33, 34]. Ezek ugyan még nem jelentenek univerzális lehetőséget az összes beteg számára (aminek oka egyrészt a mutációde-

pendens hatásmechanizmus, másrészt a hatékonyság variabilitása), már jelenleg is elérhető oki terápiát biztosítanak a betegek nagy részének, ezért minden beteg *CFTR*-statusát meg kellene határozni annak megállapítására, hogy kora és kóroki variánsai alapján alkalmas-e számára valamelyik készítmény [34].

Gyakorlati szempontból a modulátorok nagy hátránya a hihetetlenül magas árak: az élethosszig tartó kezelés egy betegnek közel 300 000 USD-ba kerül évente. Mivel ennek megfizetése a családok számára gyakorlatilag kivitelezhetetlen, a magyar betegszervezet szempontjából a revízió eleve kettős célt szolgált: mindamellett, hogy felismerésre kerültek azok a betegek, akiknek hatásos kezelést jelenthetnek a *CFTR*-modulátorok, az adatokat összesítve az érdekképviselet az érintettekről pontos számot továbbíthatott a Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő felé, ami elengedhetetlen volt a készítményekre való támogatás megszerzése céljából. Magyarországon 2021. február óta az lumakaftor–ivakaftor kettős kombinációjú *CFTR*-modulátor-terápia elérhető egyedi méltányossági kérelem alapján minden olyan 2 éves vagy annál idősebb CF-beteg számára, aki F508del homozigóta genotípusú. Az ivakaftor–tezakaftor–elexakaftor hármas kombinációjú *CFTR*-modulátor-terápia Magyarországon limitált számú beteg számára hozzáférhető egyedi méltányosság alapján, akik 6 évesek vagy annál idősebbek, és legalább 1 *CFTR* F508del mutációt hordoznak.

Azaz a regiszterrevízió sikerességét reprezentáló tény, hogy a genotípustól függő terápiák használata hazánkban is elindult, ami az érintett betegeknek minden bizonnyal rendkívüli életminőség-javulást és megnövekedett elérhető életkort fog jelenteni.

## Következtetés

A több mint 3 évig tartó revízió nagy gyakorlati jelentőséggel bír, utat mutat a ritka betegségek területén elengedhetetlen betegszervezet-szakma összefogás jelentőségének megítélésében, és egyidejűleg felhívja a figyelmet a klinikai genetika, valamint a klinikai laboratóriumi genetika jelentőségére a korszerű betegellátásban.

*Anyagi támogatás:* A közlemény megírását a GINOP-2.3.2-15-2016-00039. számú pályázat és a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Karának 'Bridging Fund' anyagi támogatása tette lehetővé.

*Szerzői munkamegosztás:* A munka megtervezése: B. I., M. G., L. I., H. A. Adatelemzés: B. I., M. G., D. A., K. K., B. B., O. O. A kísérletes munka kivitelezése: M. L., Cs. G., O. O. Bioinformatikai elemzés: Sz. Zs. Klinikai laboratóriumi genetika: B. I., K. K., B. B. A kézirat megszövegezése: D. A., B. I. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

*Érdeklőségek:* A szerzőknek nincsenek érdeklőségeik.

## Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik a klinikus kollégák és a betegszervezet alapos, körültekintő munkáját.

## Irodalom

- [1] Ivády G. Molecular epidemiology and diagnostic studies in cystic fibrosis. [Molekuláris epidemiológiai és diagnosztikai vizsgálatok cisztás fibrózisban.] Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola, Debrecen, 2019. Available from: [https://dea.lib.unideb.hu/dea/bitstream/handle/2437/264651/Ivady\\_Gergely\\_ertekezes\\_titkosított.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://dea.lib.unideb.hu/dea/bitstream/handle/2437/264651/Ivady_Gergely_ertekezes_titkosított.pdf?sequence=5&isAllowed=y) [accessed: 22. 07. 2022]. [Hungarian]
- [2] Orenti A, Zolin A, van Rens J, et al. ECFSPR European Cystic Fibrosis Society Patient Registry. ECFS Patient Registry 2020. Annual data report. European Cystic Fibrosis Society, Karup, 2022. Available from: [https://www.ecfs.eu/sites/default/files/ECFSPR\\_Report\\_2020\\_v1.0%20%2807Jun2022%29\\_website.pdf](https://www.ecfs.eu/sites/default/files/ECFSPR_Report_2020_v1.0%20%2807Jun2022%29_website.pdf) [accessed: 22. 07. 2022].
- [3] Veres G, Kovács L. Cystic fibrosis. In: Tulassay T, Arató A. (eds.) Paediatric guidelines. [Cisztás fibrózis. In: Tulassay T, Arató A. (szerk.) Gyermekgyógyászati útmutató.] Medition Könyvkiadó, Budapest, 2006; pp. 43–61. [Hungarian]
- [4] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17: 405–424.
- [5] McKone EF, Emerson SS, Edwards KL, et al. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003; 361: 1671–1676.
- [6] Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, et al. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genet Med.* 2008; 10: 851–868.
- [7] Amaral MD, Hutt DM, Tomati V, et al. CFTR processing, trafficking and interactions. *J Cyst Fibros.* 2020; 19(Suppl 1): S33–S36.
- [8] Tewkesbury DH, Robey RC, Barry PJ. Progress in precision medicine in cystic fibrosis: a focus on CFTR modulator therapy. *Breathe (Sheff)* 2021; 17: 210112.
- [9] European Medicines Agency. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en> [accessed: 22. 07. 2022].
- [10] National Institute of Pharmacy and Nutrition. [Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet.] Available from: <https://ogyei.gov.hu/nyitoldal> [accessed: 22. 07. 2022]. [Hungarian]
- [11] Gyurkovits K. Cystic fibrosis – still a clinical diagnosis. [Cisztás fibrózis – még mindig klinikai diagnózis!] *Mucoviscidosis Hung.* 2016; 2: 30–37. [Hungarian]
- [12] Farrell PM, White TB, Ren CL, et al. Diagnosis of cystic fibrosis: consensus guidelines from the cystic fibrosis foundation. *J Pediatr.* 2017; 181S: S4–S15.e1.
- [13] Cystic Fibrosis Patients Association. [Cisztás Fibrózis Betegek Egyesülete – CFBE.] Available from: <https://www.cisztasfibrózis.hu/> [accessed: 22. 07. 2022]. [Hungarian]
- [14] Ivády G, Madar L, Nagy B, et al. Distribution of CFTR mutations in Eastern Hungarians: relevance to genetic testing and to the introduction of newborn screening for cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2011; 10: 217–220.
- [15] Devyser. Devyser CFTR CE-MD,7-A038-EN, version 2018-04-26. Instructions for use, 2018. 2018.
- [16] Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, et al. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods* 2014; 11: 361–362.
- [17] gnomAD. Genome Aggregation Database. Available from: <https://gnomad.broadinstitute.org/> [accessed: 30. 09. 2022].
- [18] Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, et al. Human splicing finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Res.* 2009; 37: e67.
- [19] Salgado D, Desvignes JP, Rai G, et al. UMD-predictor: a high-throughput sequencing compliant system for pathogenicity prediction of any human cDNA substitution. *Hum Mutat.* 2016; 37: 439–446.
- [20] Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* 2010; 7: 248–249.
- [21] Dorfman R, Sandford A, Taylor C, et al. Complex two-gene modulation of lung disease severity in children with cystic fibrosis. *J Clin Invest.* 2008; 118: 1040–1049.
- [22] Drumm ML, Konstan MW, Schluchter MD, et al. Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2005; 353: 1443–1453.
- [23] Dijk FN, McKay K, Barzi F, et al. Improved survival in cystic fibrosis patients diagnosed by newborn screening compared to a historical cohort from the same centre. *Arch Dis Child.* 2011; 96: 1118–1123.
- [24] Dankert-Roelse JE, Mérelle ME. Review of outcomes of neonatal screening for cystic fibrosis *versus* non-screening in Europe. *J Pediatr.* 2005; 147(Suppl 3): S15–S20.
- [25] Siret D, Bretaudeau G, Branger B, et al. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms: a 10-year retrospective study in a French region (Brittany). *Pediatr Pulmonol.* 2003; 35: 342–349.
- [26] Sims EJ, Clark A, McCormick J, et al. Cystic fibrosis diagnosed after 2 months of age leads to worse outcomes and requires more therapy. *Pediatrics* 2007; 119: 19–28.
- [27] Zhang Z, Lindstrom MJ, Farrell PM, et al. Pubertal height growth and adult height in cystic fibrosis after newborn screening. *Pediatrics* 2016; 137: e20152907.
- [28] Ministry of Human Resources. Screening for cystic fibrosis among the obligatory newborn metabolic screenings. [EMMI. Bekerült a kötelező újszülöttkori anyagcsere-szűrések közé a CF (cisztás fibrózis) szűrés.] 11 December 2021. Available from: <https://kormany.hu/hirek/bekerult-a-kotelezo-ujszulottkori-anyagcsere-szuresek-koze-a-cf-cisztas-fibrózis-szures> [accessed: 22. 07. 2022]. [Hungarian]
- [29] Bergougnoux A, Lopez M, Girodon E. The role of extended CFTR gene sequencing in newborn screening for cystic fibrosis. *Int J Neonatal Screen.* 2020; 6: 23.
- [30] Castellani C, Duff AJ, Bell SC, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cystic Fibros.* 2018; 17: 153–178.
- [31] Cystic Fibrosis Foundation. Drug development pipeline. Available from: <https://www.cff.org/Trials/Pipeline> [accessed: 22. 07. 2022].
- [32] Lee JA, Cho A, Huang EN, et al. Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for precision medicine. *J Transl Med.* 2021; 19: 452.
- [33] 4D Molecular Therapeutics. An open-label, phase 1/2 trial of gene therapy 4D-710 in adult patients with cystic fibrosis. Report No.: NCT05248230. 2022. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05248230> [accessed: 22. 07. 2022].
- [34] Simon RH. Cystic fibrosis: Overview of the treatment of lung disease – UpToDate 2022. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-overview-of-the-treatment-of-lung-disease?search=cystic%20fibrózis%20treatment&source=search\\_result&selectedTitle=1-150&usage\\_type=default&display\\_rank=1#H2546937538](https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-overview-of-the-treatment-of-lung-disease?search=cystic%20fibrózis%20treatment&source=search_result&selectedTitle=1-150&usage_type=default&display_rank=1#H2546937538) [accessed: 22. 07. 2022].

(Balogh István dr.,  
Debrecen, Nagyerdei krt. 98., 4032  
e-mail: balogh@med.unideb.hu)