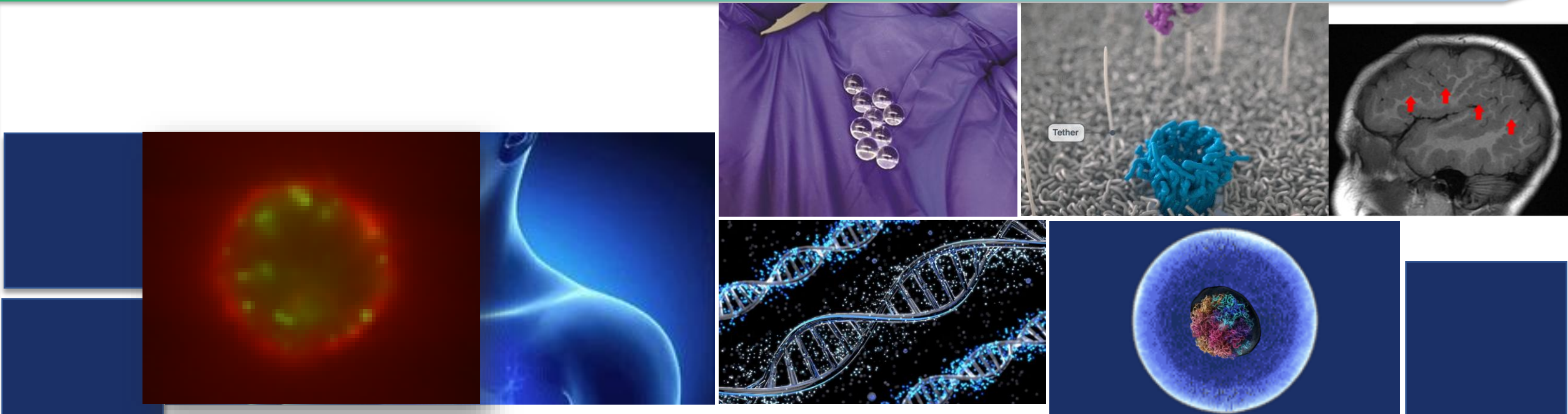




LIZOSZOMÁLIS TÁROLÁSI BETEGSÉGEK IMMUNOLÓGIAI HÁTTERÉNEK JELENTŐSÉGE

Kovács Árpád Ferenc

2023.10.03.

Kezelhető genetikai betegségek

DNS

SMA – AAV9 Zolgensma
DMD – AAVrh74 ELEVIDYS
RPE65 RD – AAV2 Luxturna
 β thalassaemia – LV Zynteglo
Metakromatikus LD – LV Libmeldy
Adreno LD – LV Skysona
 α ASDC – rAAV- Upstaza
Hemofília A – AAV5 Roctavian
Hemofília B – AAV5 Hemgenix
E.Bullosa – HSV-1 Vyjuvek

RNS

SMA – Nusinersen
DMD – Eteplirsén, Golodirsén, Casimersen
hATTR – Patisiran, Inotersen, Vutrisiran
LPL – Volanesorsén APOCIII
LDL-C hyperCOL – Inclisiran – iPCSK9
HiperCOL – Mipomersen

Fehérje

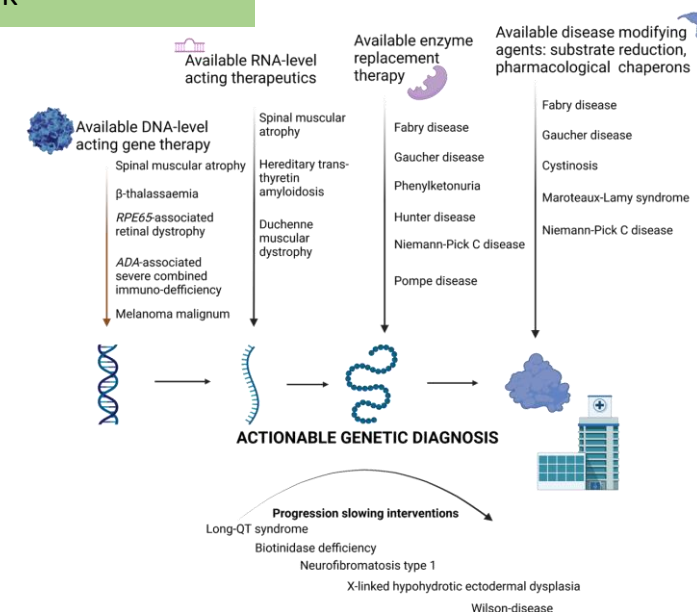
Fabry-betegség – ERT, Chaperone
Gaucher-betegség – ERT, SRT
Hunter-betegség – ERT
Pompé-betegség – ERT
Niemann-Pick C - ERT
PKU- ERT
Cystinosis – SRT
Maroteaux-Lamy – SRT
Ektodermális diszplázia – Fc-EDA
Hurler-betegség – ERT
Scheie-betegség – ERT
Sly-szindróma – ERT
Wolman-betegség – ERT
Morquio-betegség - ERT

Sejt-szinten ható

Neurofibromatózis – iMEK
Noonan-szindróma – GH
Mazzanti-szindróma – GH
Silver-Russell-szindróma - GH
PROS – iPI3K

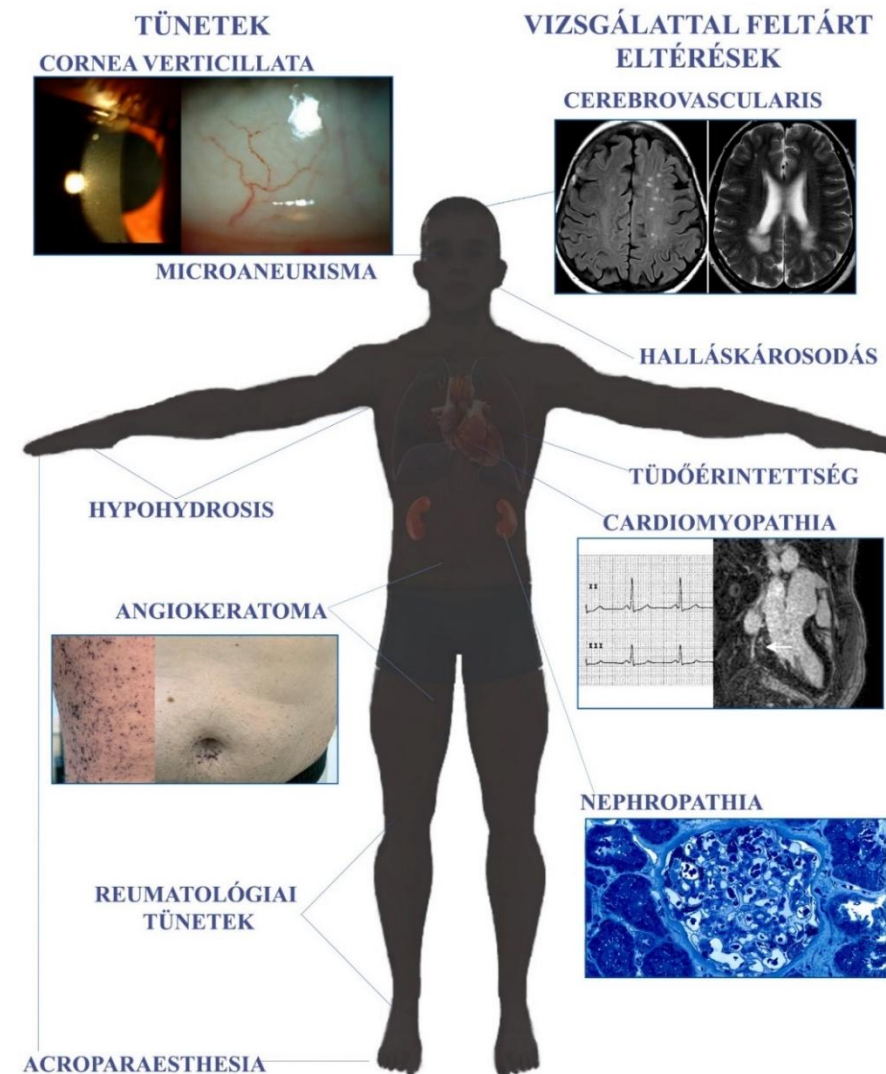
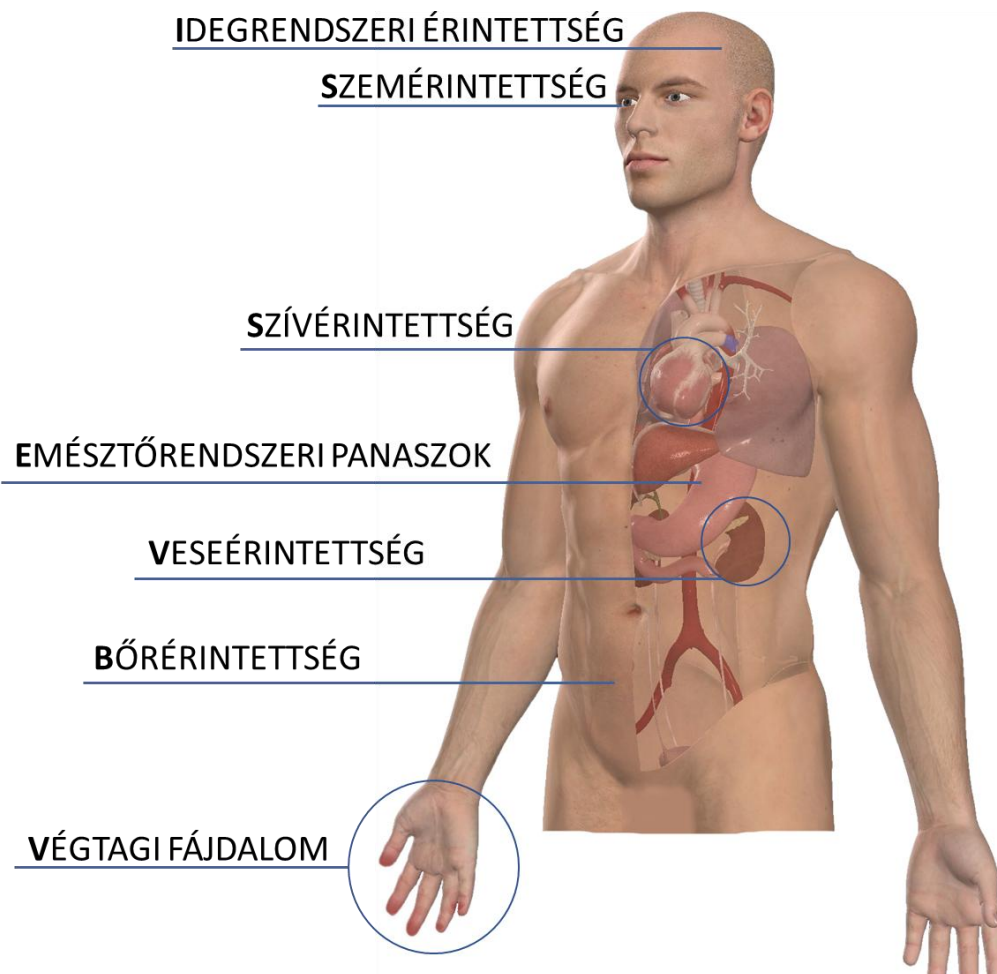
Szövet-szinten ható

DiGeorge-szindróma Rethymic Tx
ADA-SCID – Strimvelis CD34+ Tx



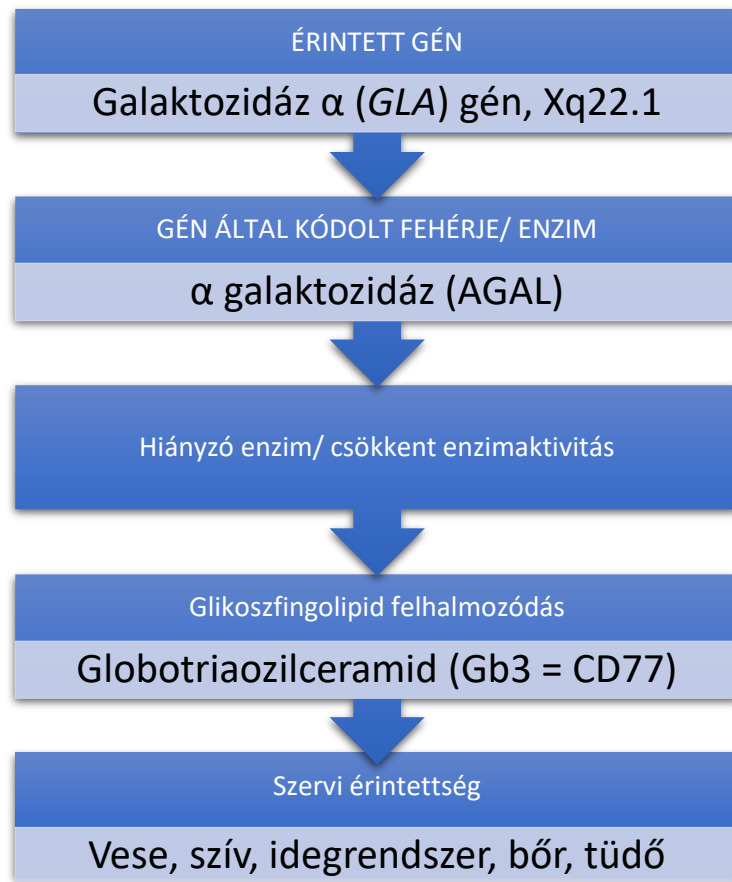
Kovács ÁF. (2023) Gene Therapy of Extracellular Vesicles in Cardiovascular and Metabolic Diseases. Adv Exp Med Biol, 1418:207-228.

Kovács, Árpád Ferenc, Zaránd Némethi, Tünde Abonyi, György Fekete, and Gábor T. Kovács. 2022. "Enhancing Molecular Testing for Effective Delivery of Actionable Gene Diagnostics" *Bioengineering* 9, no. 12: 745. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9120745>

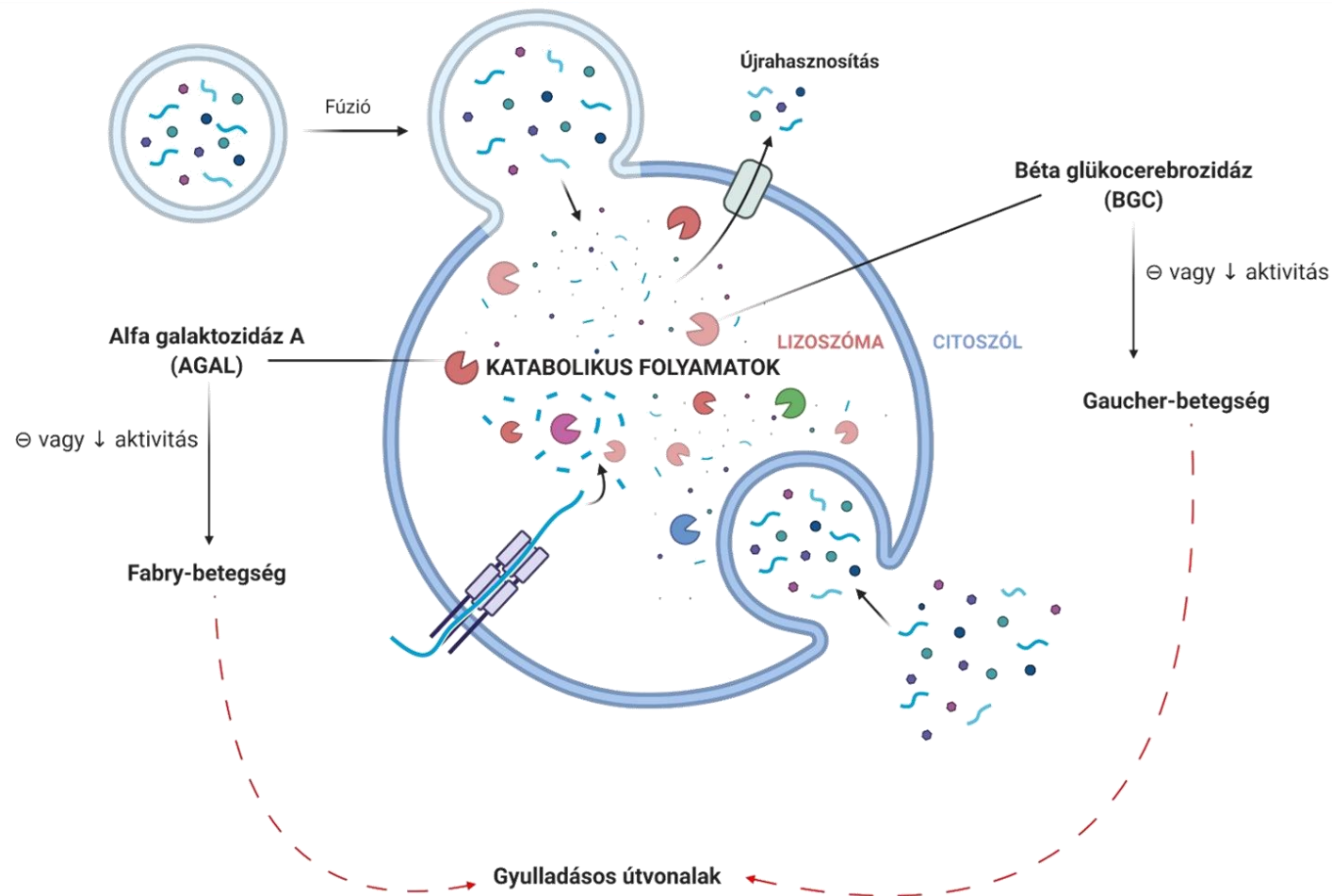


Kovács at al. Fabry-betegség diagnosztikai útmutató 2021. Gyermekgyógyászat

Fabry-betegség molekuláris szintere

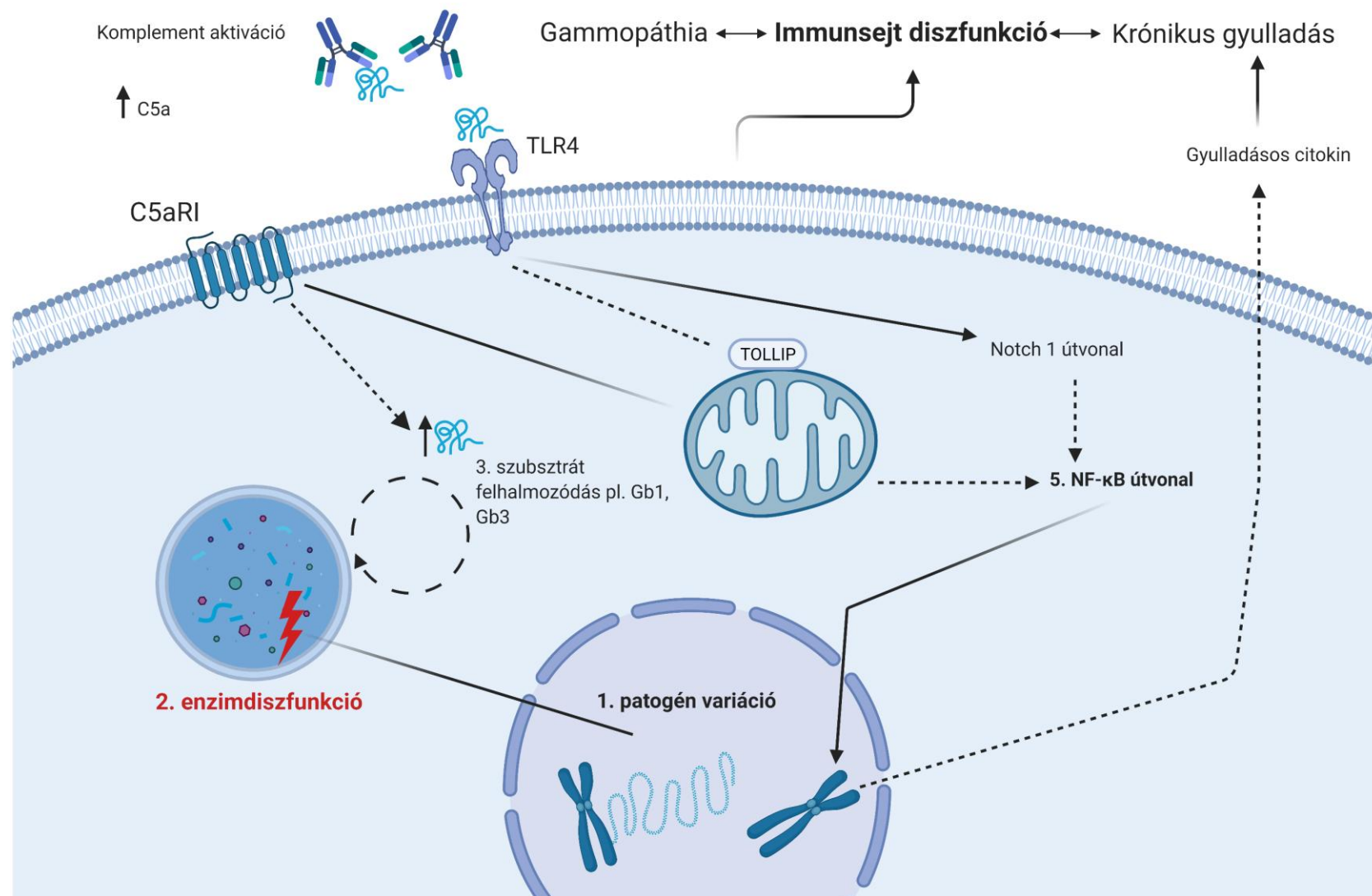


Kovács Á. Fekete Gy – Gaucher füzetek 4, 2021



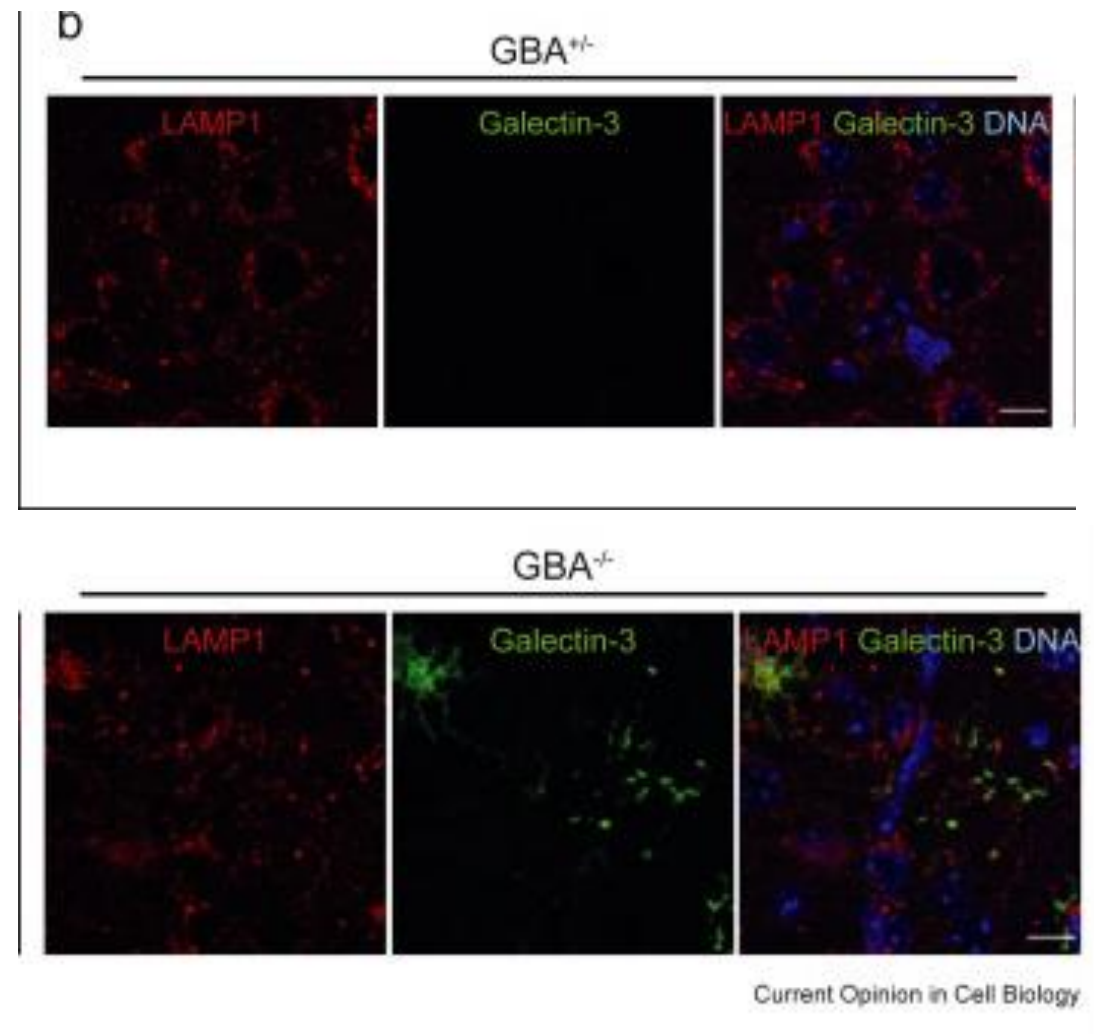
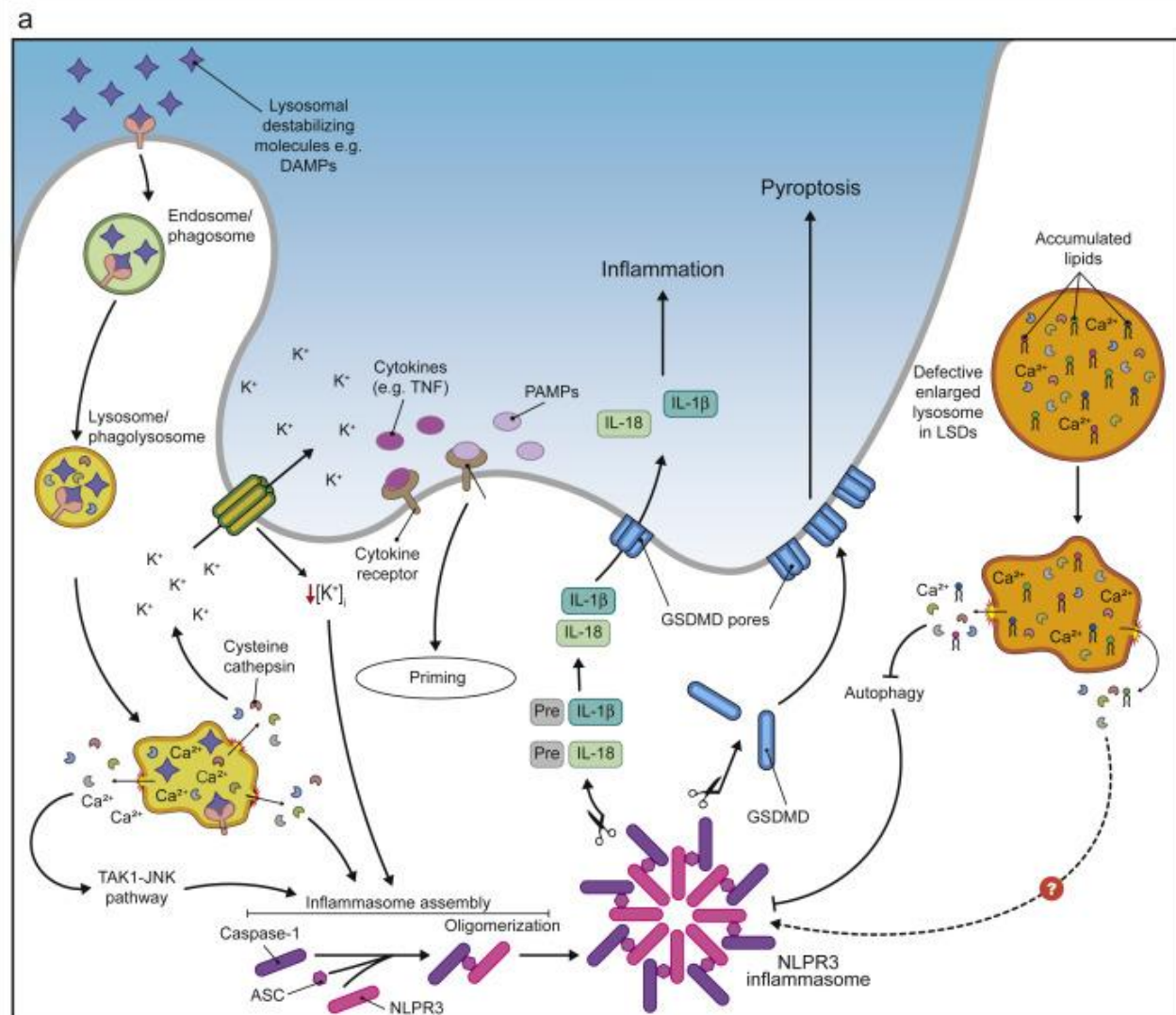
Fekete N, Haltrich I, Szalai R, Kovács O, Kovács ÁF – A liszomális tárolási megbetegedések okozta szisztémás immunológiai eltérések, Immunológiai Szemle, 2021

Enzimopáthia és gyulladás molekuláris szintere

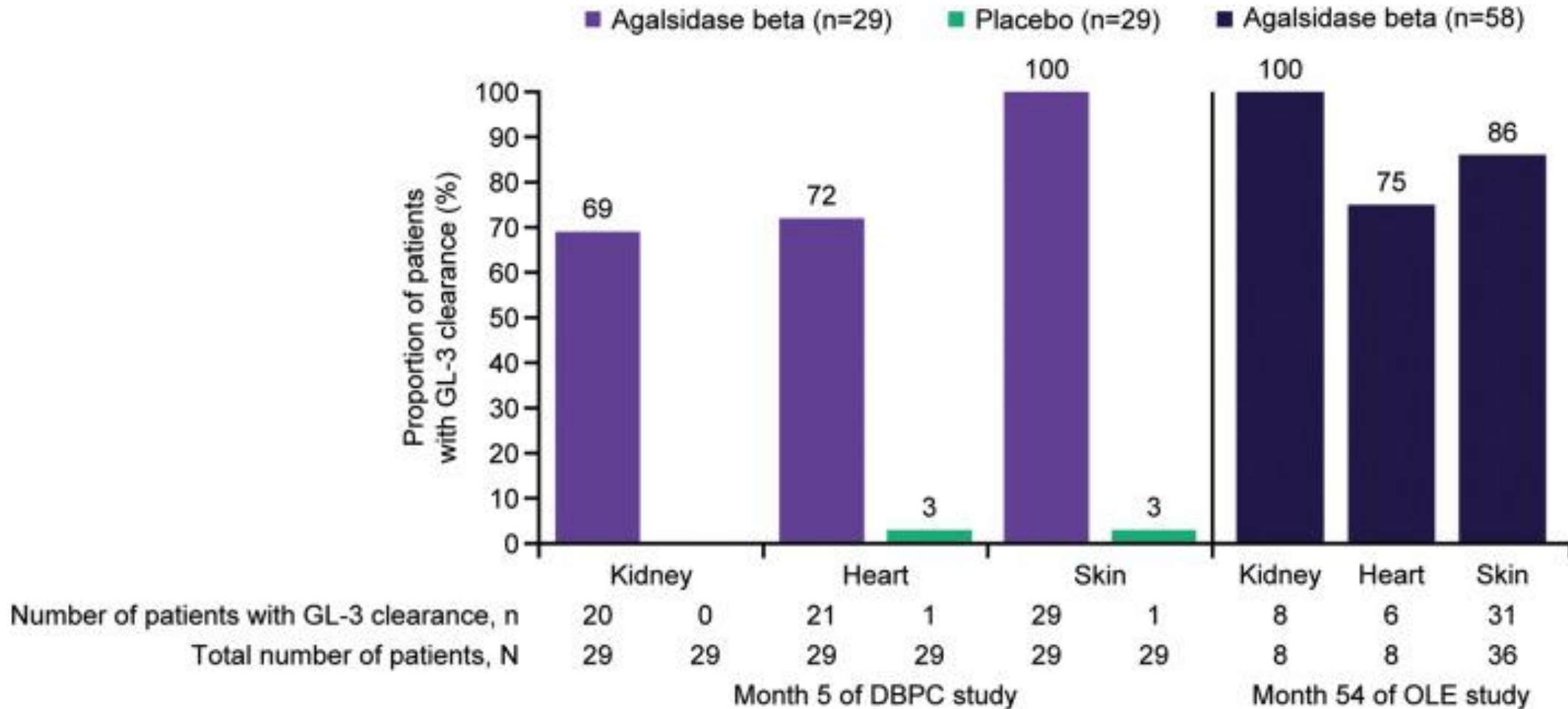


Fekete Nóra, Haltrich Irén, Szalai Renáta, Kovács Orsolya Tünde, Kovács Árpád Ferenc (2021) A lizoszomális tárolási megbetegedések okozta szisztémás immunológiai eltérések. Immunológiai Szemle XII (2): 4-7

Enzimopáthia és gyulladás molekuláris szintere

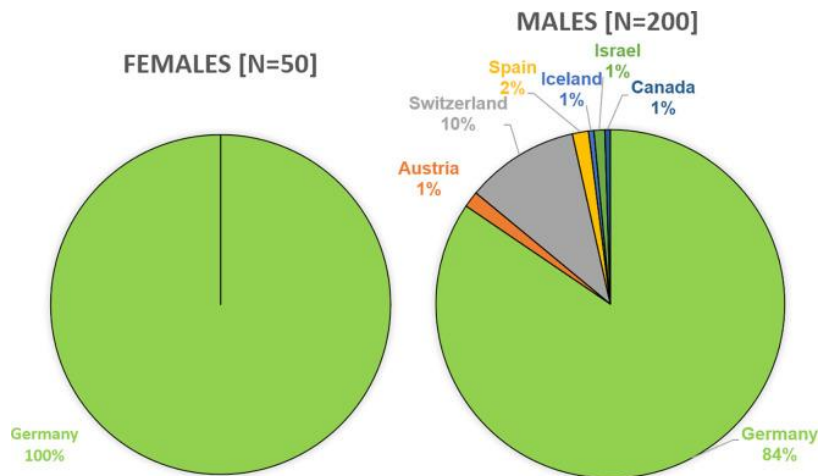


Jonathan Stahl-Meyer, Kamilla Stahl-Meyer, Marja Jäätelä, Control of mitosis, inflammation, and cell motility by limited leakage of lysosomes, Current Opinion in Cell Biology, Volume 71, 2021

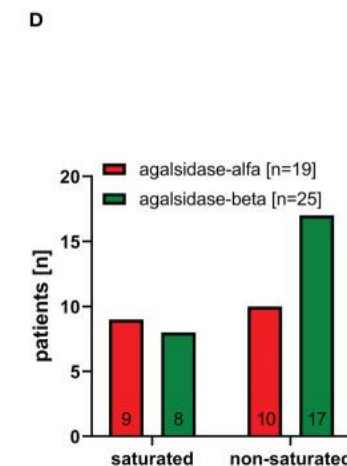
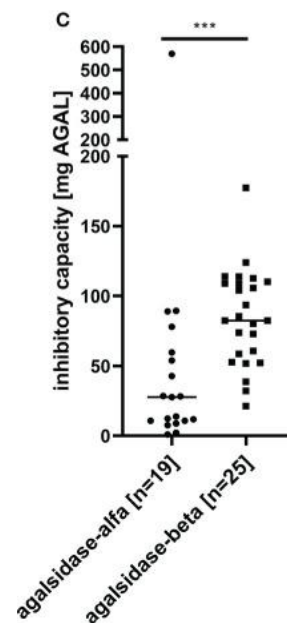
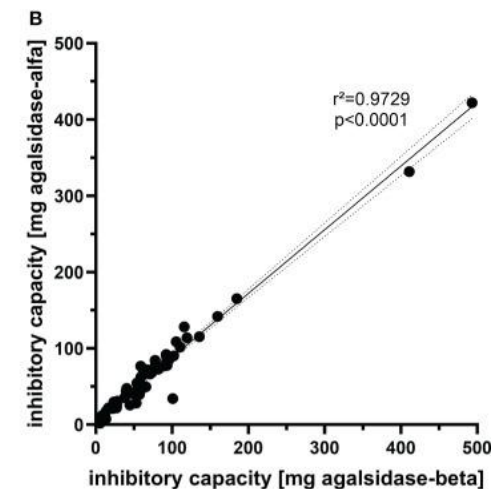
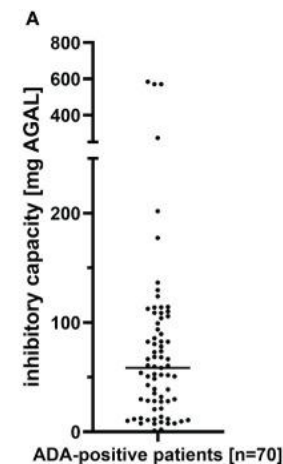
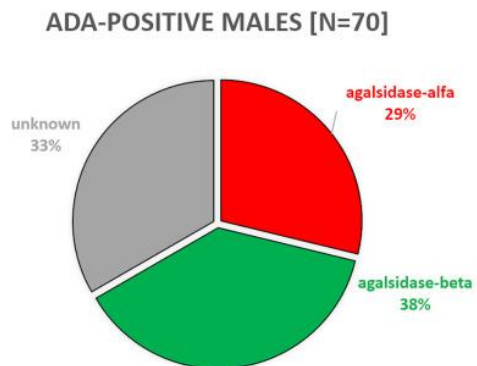


Moskot M, Bocheńska K, Jakóbkiewicz-Banecka J, Banecki B, Gabig-Cimińska M. Abnormal Sphingolipid World in Inflammation Specific for Lysosomal Storage Diseases and Skin Disorders. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1):247. Published 2018 Jan 15. doi:10.3390/ijms19010247

Enzimopáthia és gyulladás molekuláris színtere

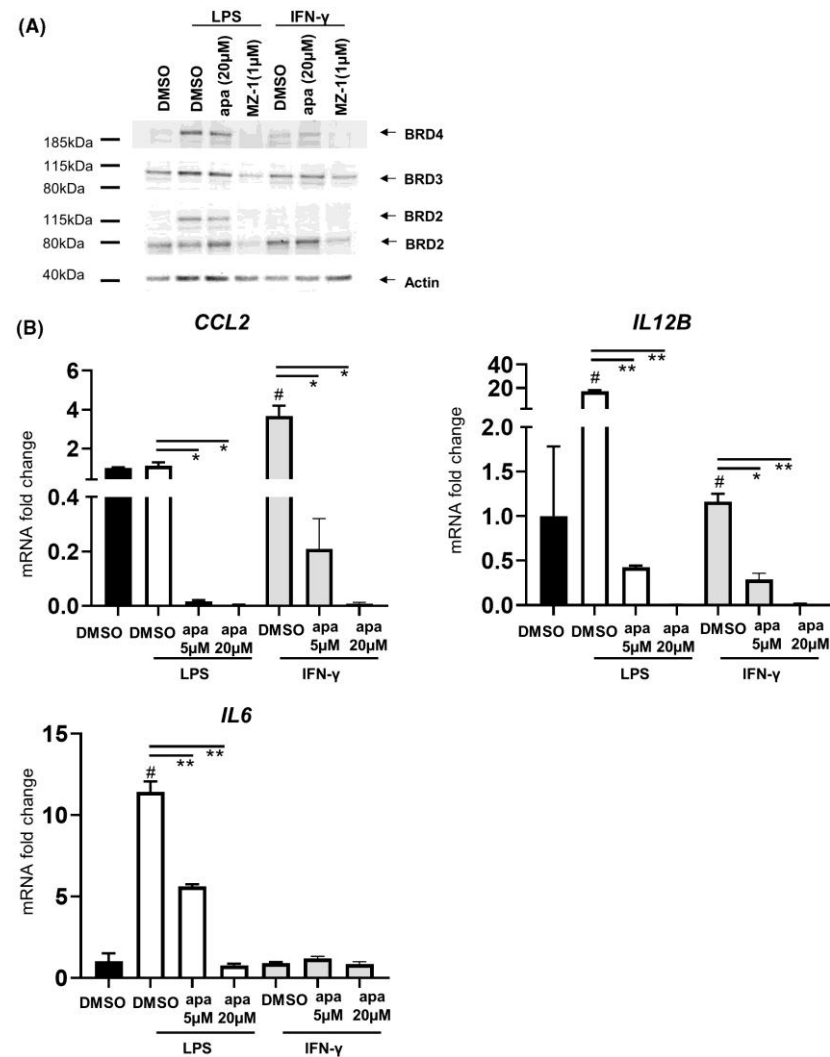
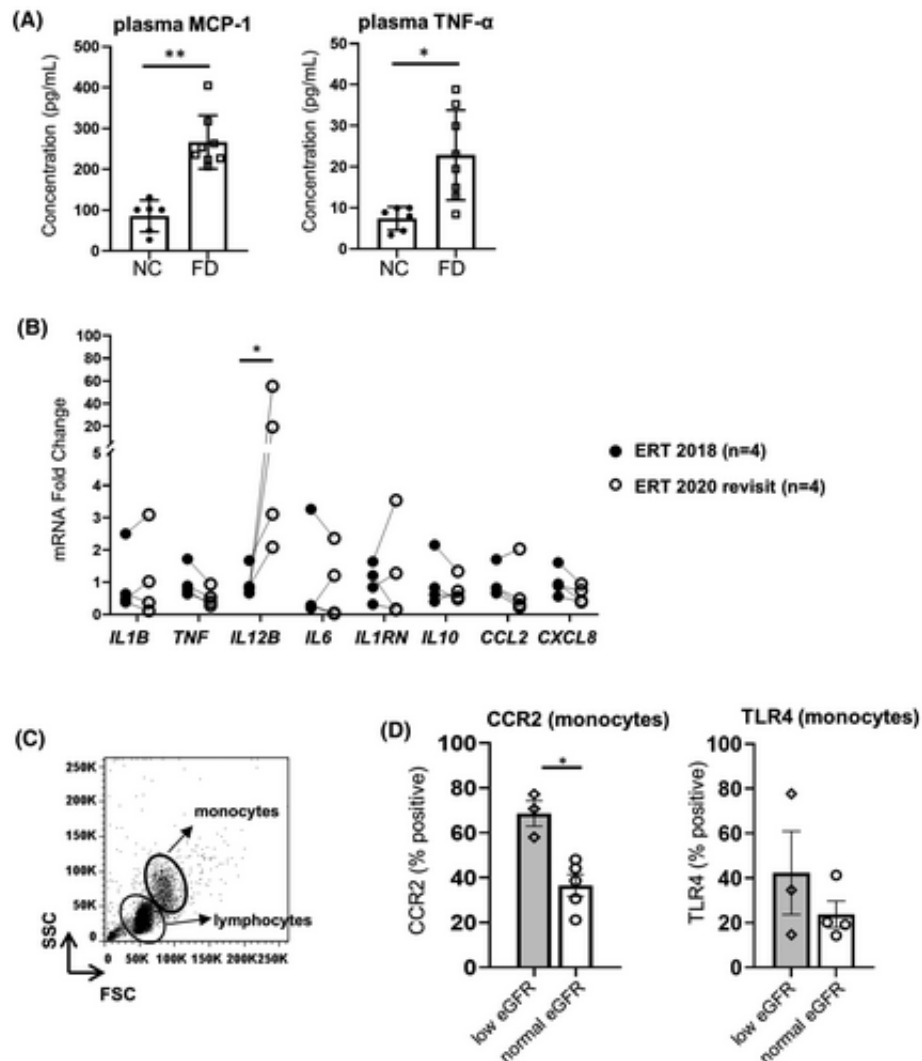


screening for neutralizing ADAs



Lenders, Malte, and Eva Brand. "Assessment and impact of dose escalation on anti-drug antibodies in Fabry disease." *Frontiers in immunology* vol. 13 1024963. 9 Dec. 2022, doi:10.3389/fimmu.2022.1024963

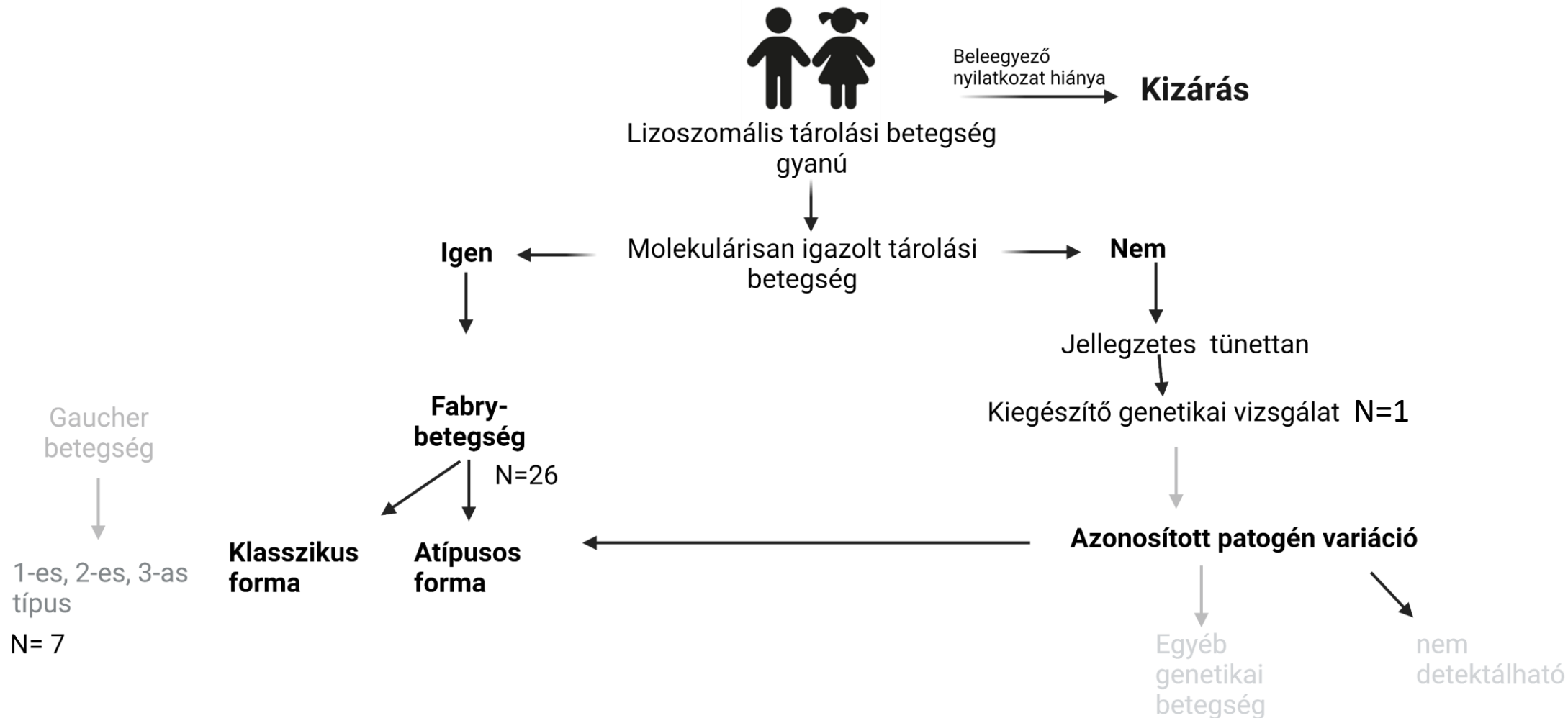
Enzimopáthia és gyulladás molekuláris színtere



Fu, L, Wasiak, S, Tsujikawa, LM, et al. Inhibition of epigenetic reader proteins by apabetalone counters inflammation in activated innate immune cells from Fabry disease patients receiving enzyme replacement therapy. *Pharmacol Res Perspect.* 2022; 10:e00949. doi:[10.1002/prp2.949](https://doi.org/10.1002/prp2.949)

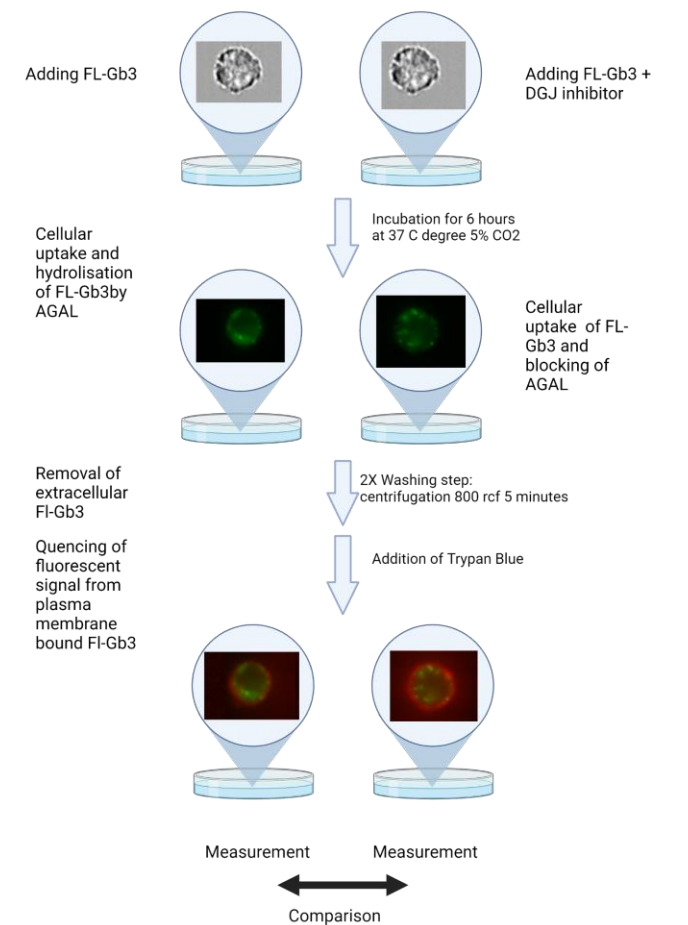
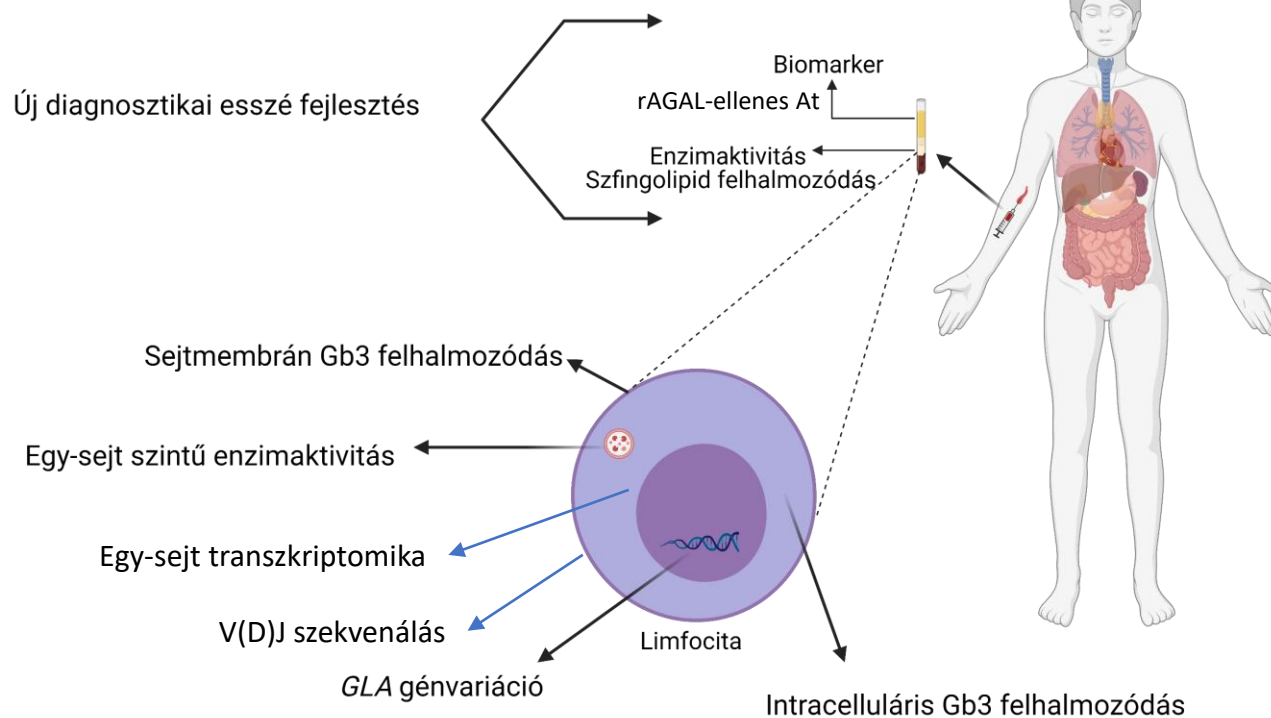
Az alfa-galaktozidáz (AGAL) aktivitás, a felhalmozódó szubsztrát következtében kialakuló lizoszomális diszfunkció és gyulladás multiomikai felmérése.

LSD N=33,
Kontroll N=15



TUKEB engedélyszám: ETT TUKEB IV/782-3/2021/EKU

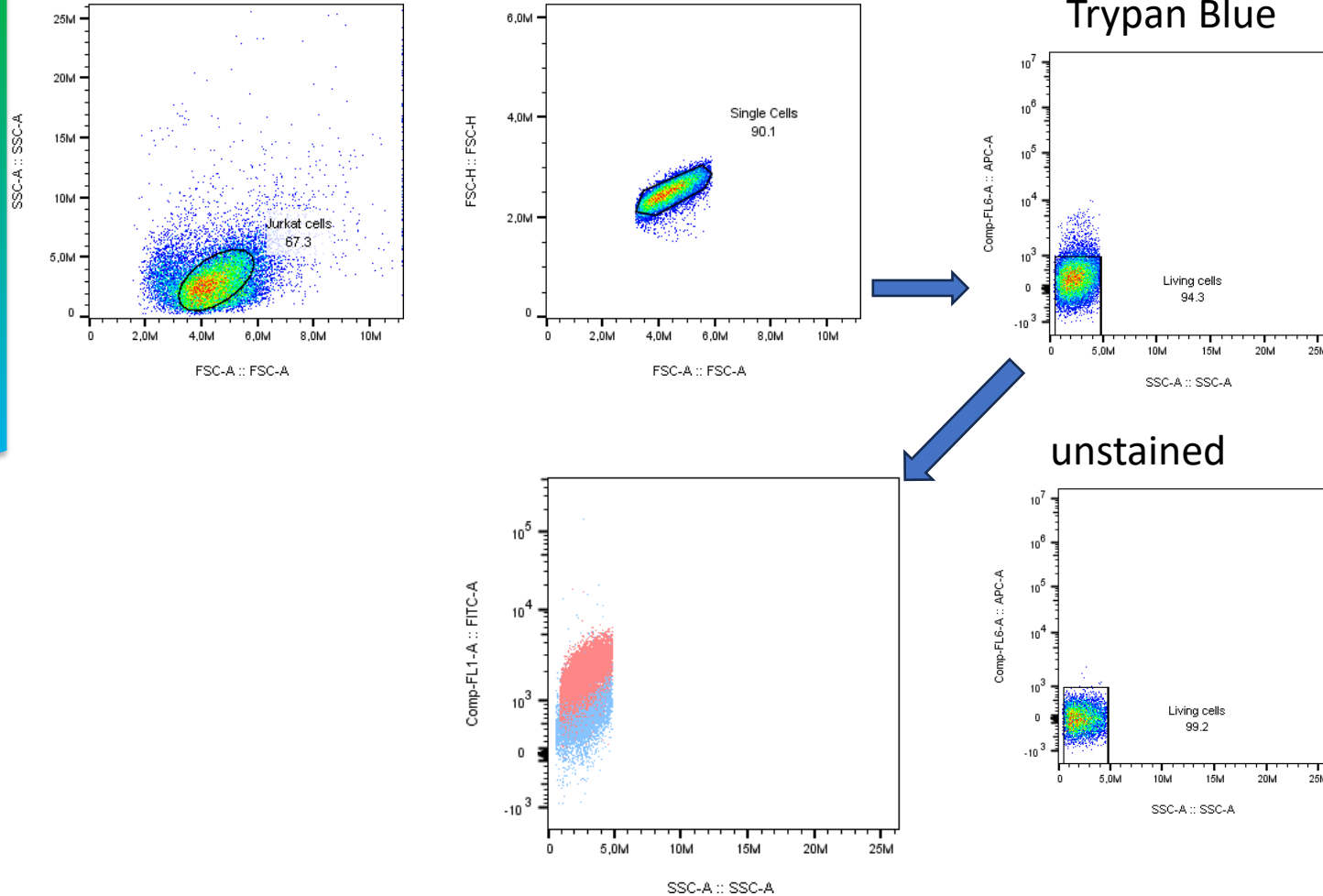
Egy-sejt szintű multiomika



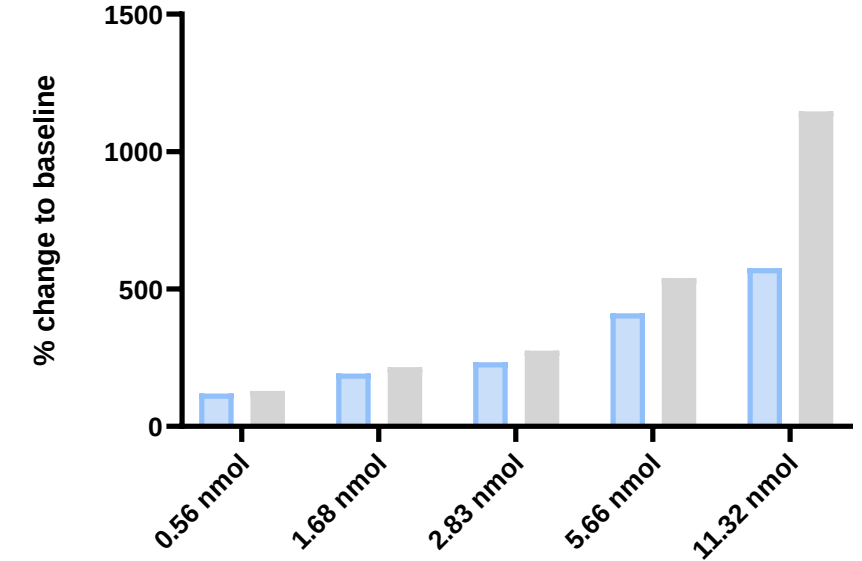
Lysosome
 Fluorescently-labeled globotriaosyl-ceramide (FL-Gb3)
 Alpha galactosidase (AGAL)
 inhibitor of alpha galactosidase (DGJ)

Jurkat T-sejtes sejtvonala

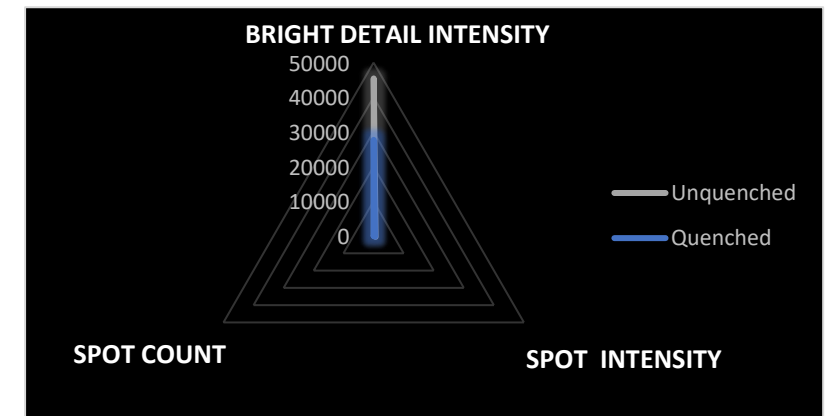
Áramlási citométer esszéfejlesztés



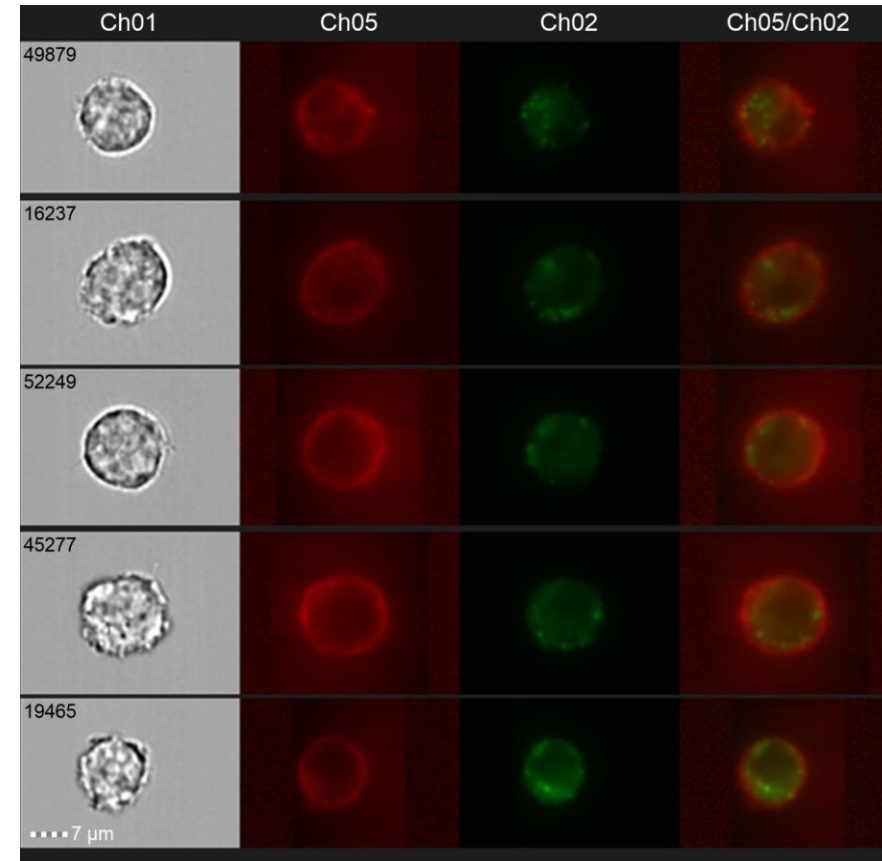
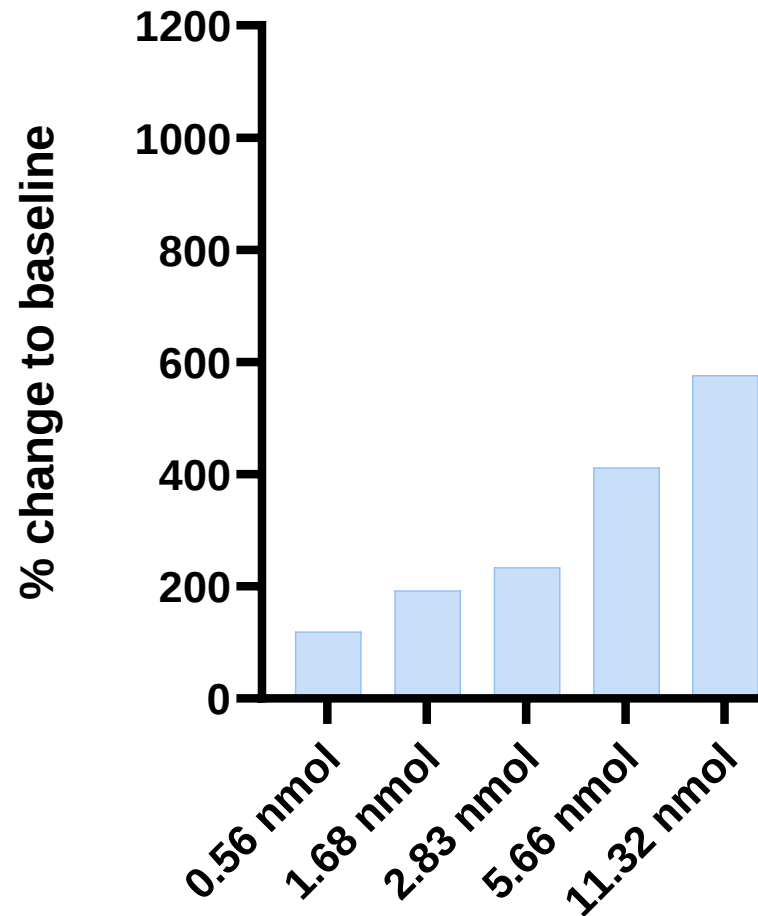
B. Unquenched vs. Quenched - FC



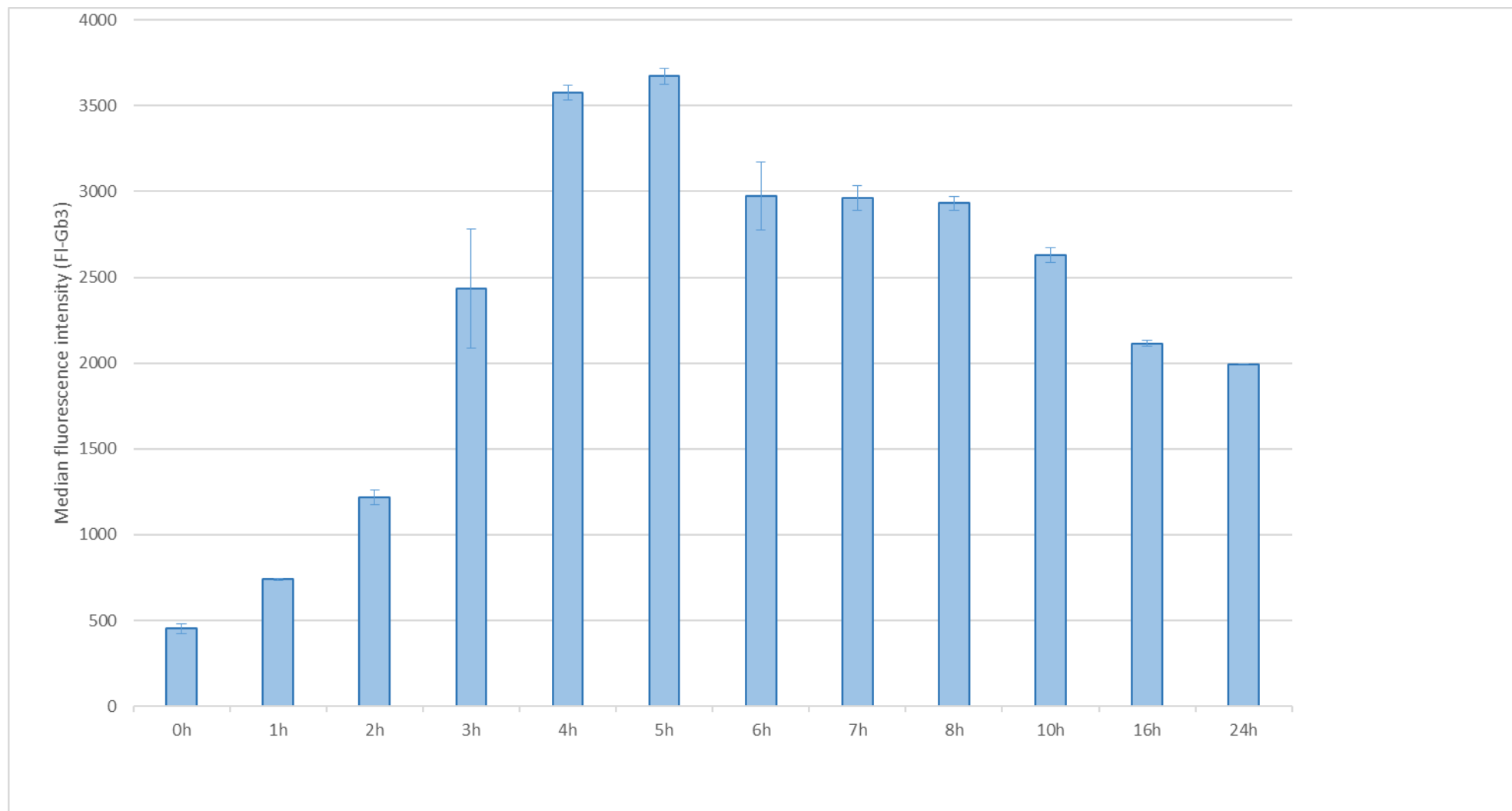
C. Unquenched vs. Quenched – imaging cytometry



Koncentráció-függő FL-Gb3 felvétel detektálása áramlási és képalkotó citometriával

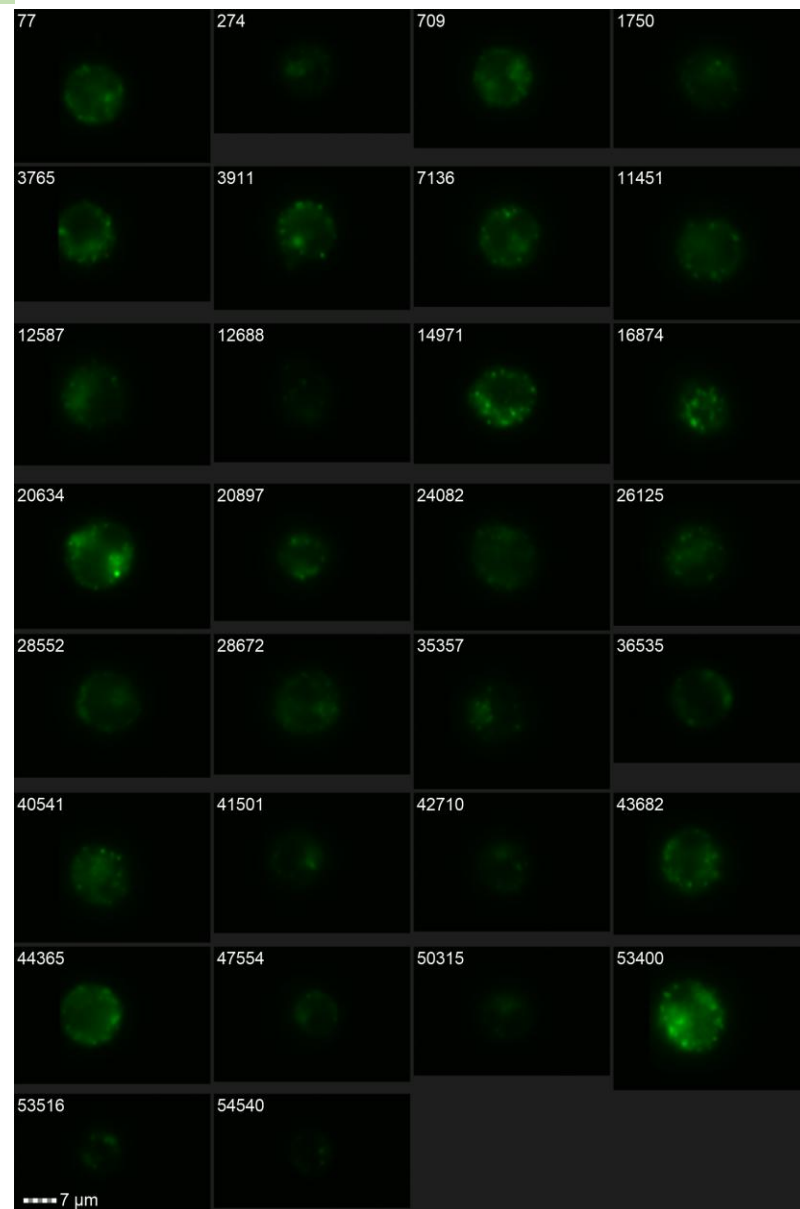


2.83 nmol FI-Gb3 felvétele és metabolizálása az idő függvényében

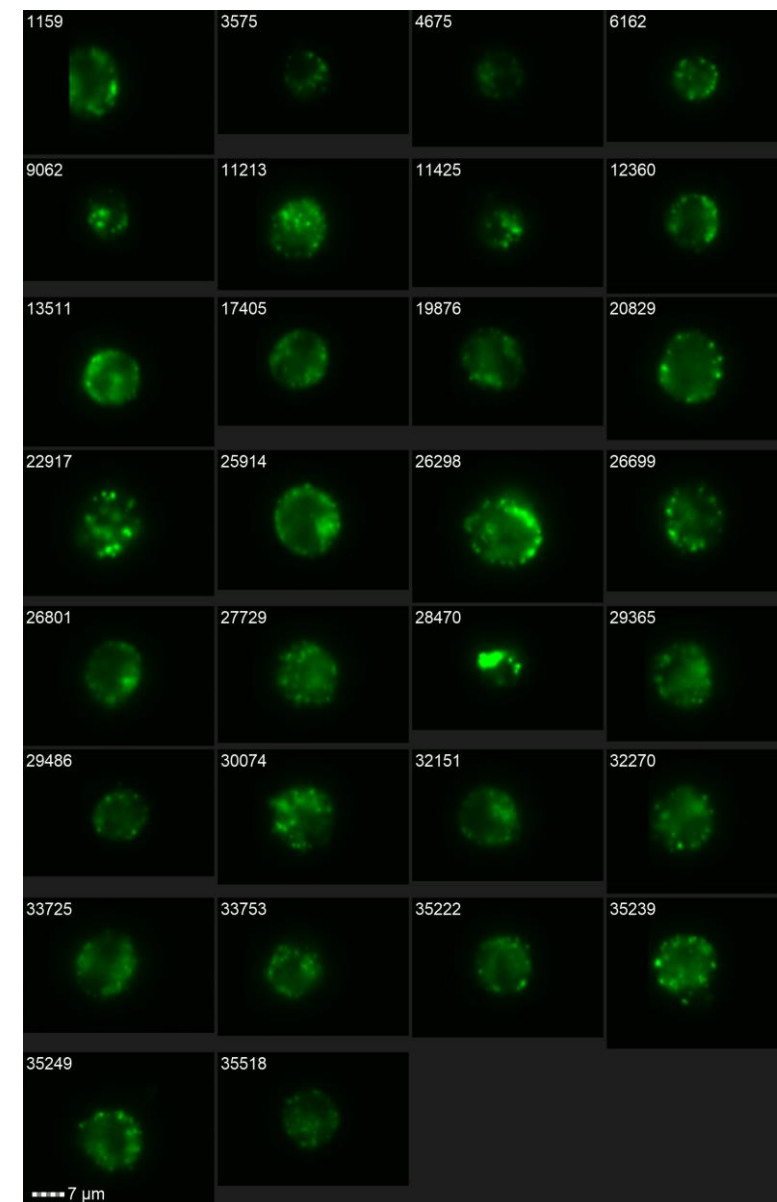


Eredmények (5)

Jurkat Gb3

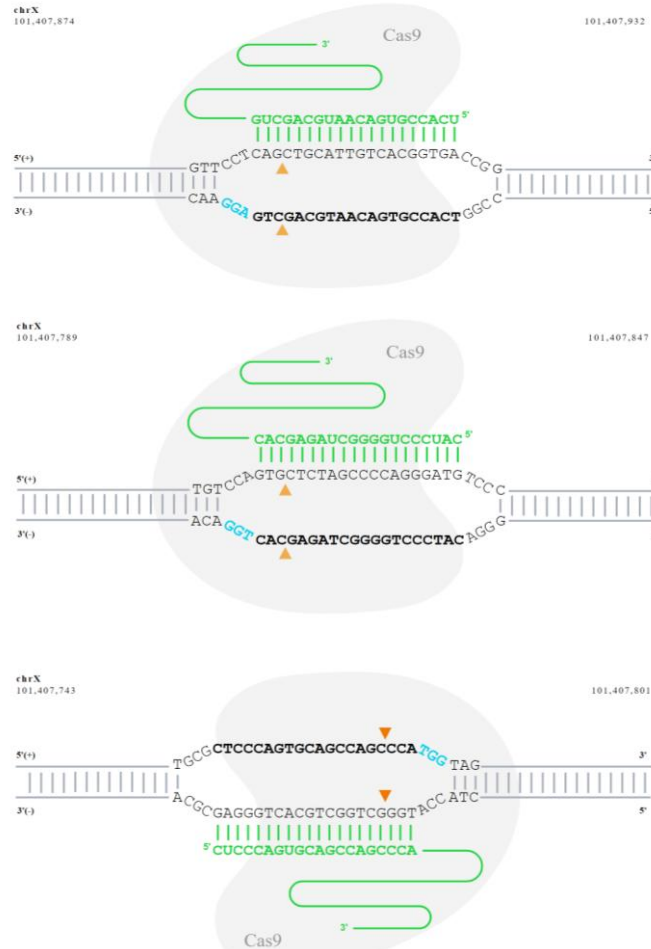


Jurkat Gb3+ DGJ

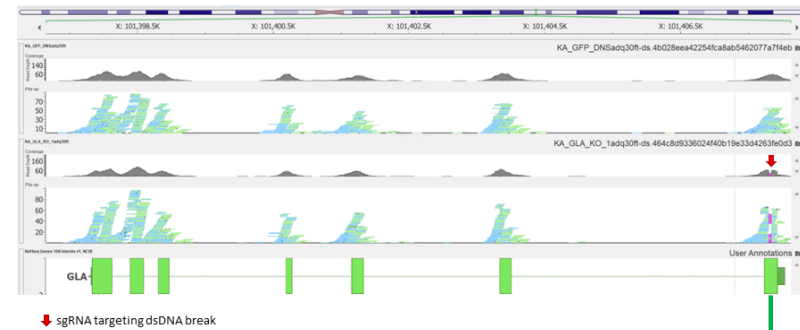


Eredmények (6)

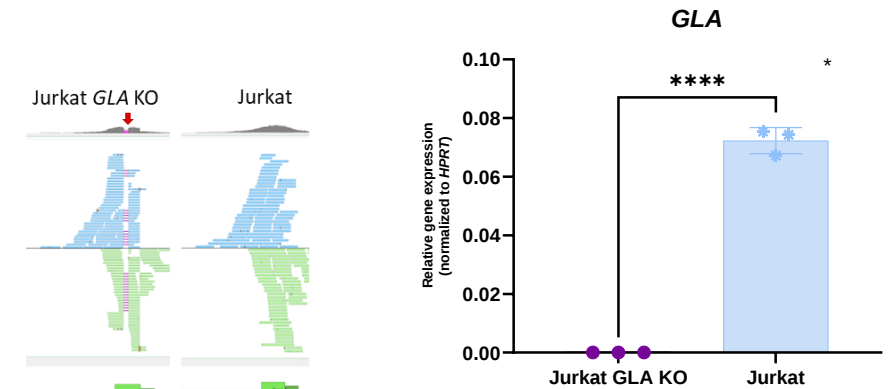
A. GLA sgRNA design



B. Clone selected GLA KO cells: GLA - DNA



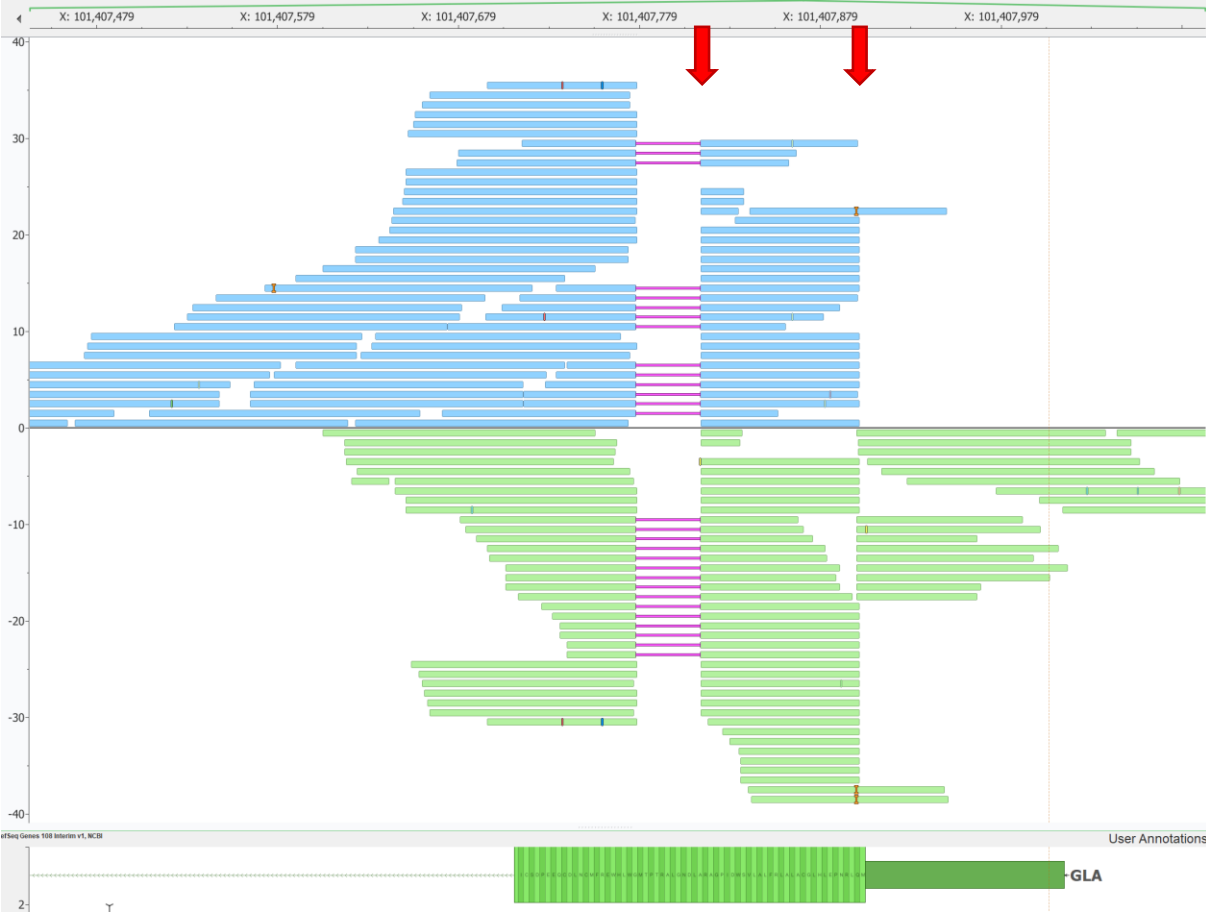
C. Clone selected GLA KO cells: GLA - RNA



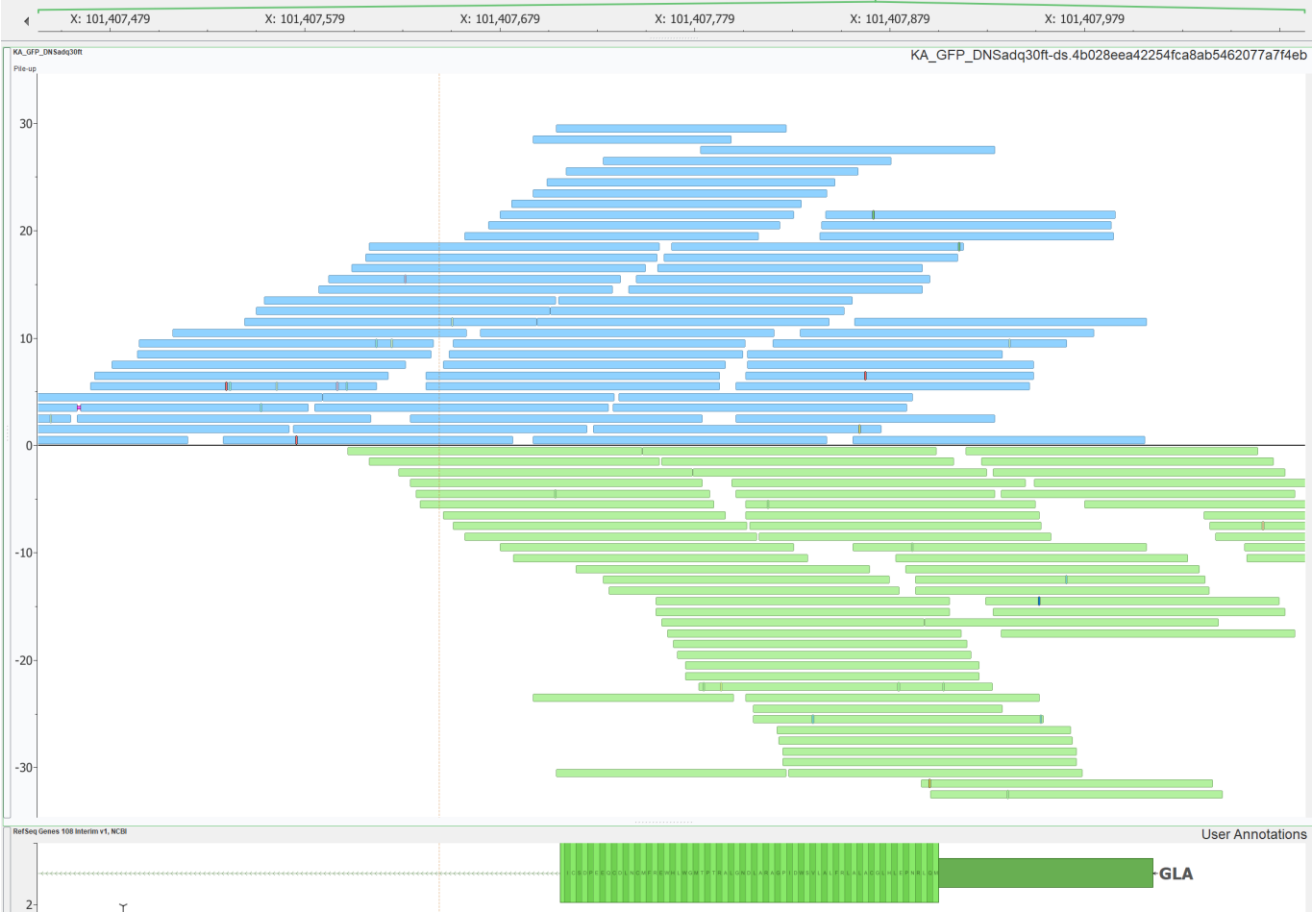
sgRNA1: X:101,407,883
sgRNA2: X:101,407,797
sgRNA3: X:101,407,794

↓ dsDNA break

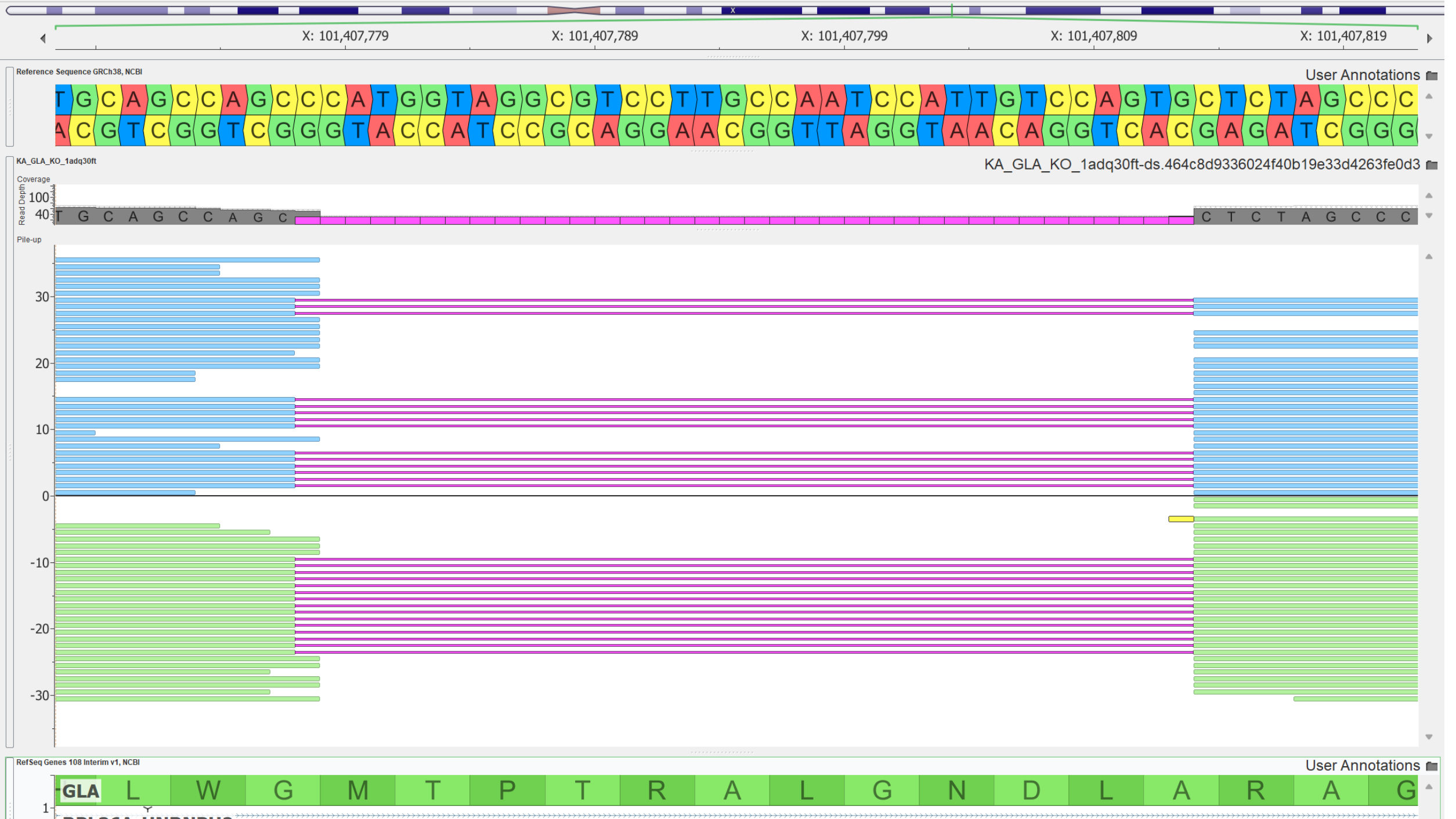
Jurkat *GLA* KO



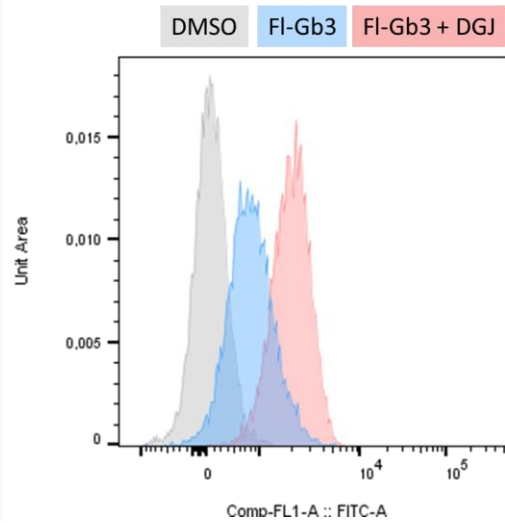
Jurkat



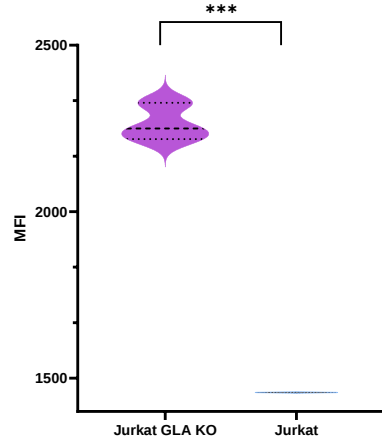
ISCN2020: seq[GRCh38] NC_000023.11(NM_000169):g.101,407,776_101,407,812del



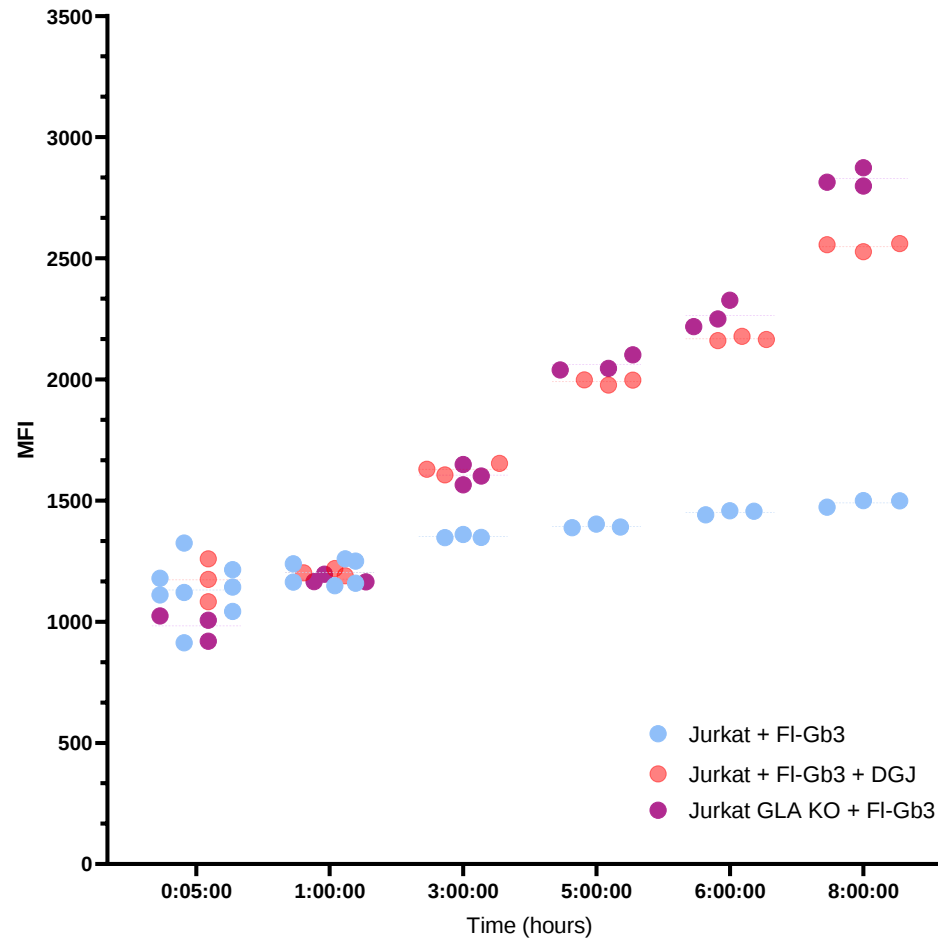
Eredmények (7)



Szubsztrát felhalmozódás

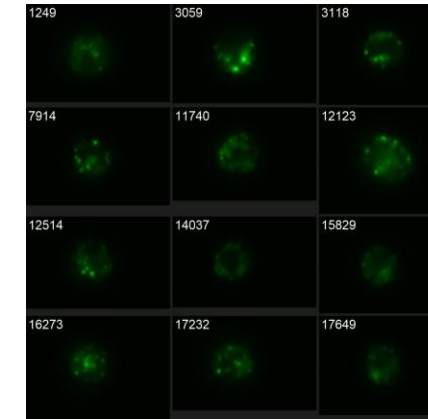


AGAL enzimaktivitás-áramlási citometria

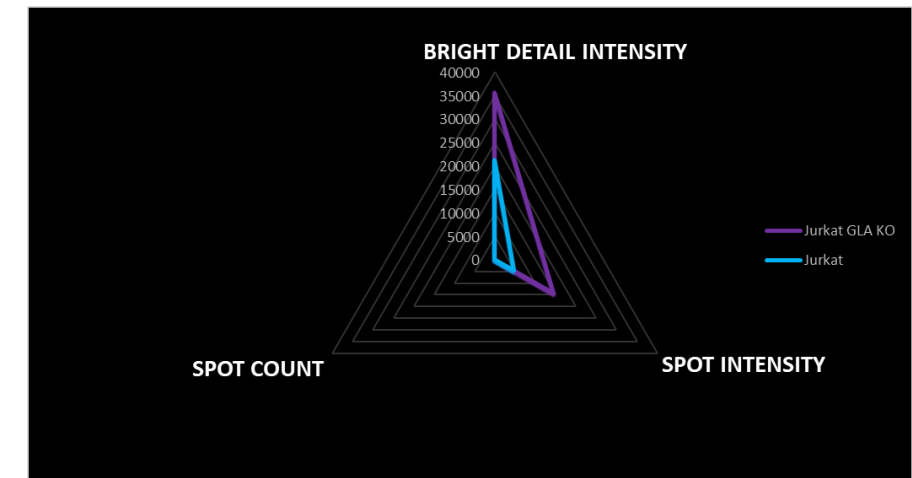
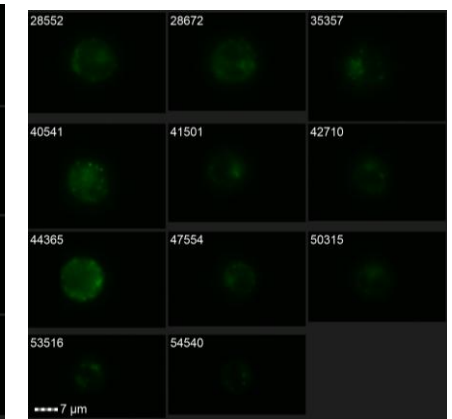


AGAL enzimaktivitás-képkalkuló citometria

Jurkat GLA KO

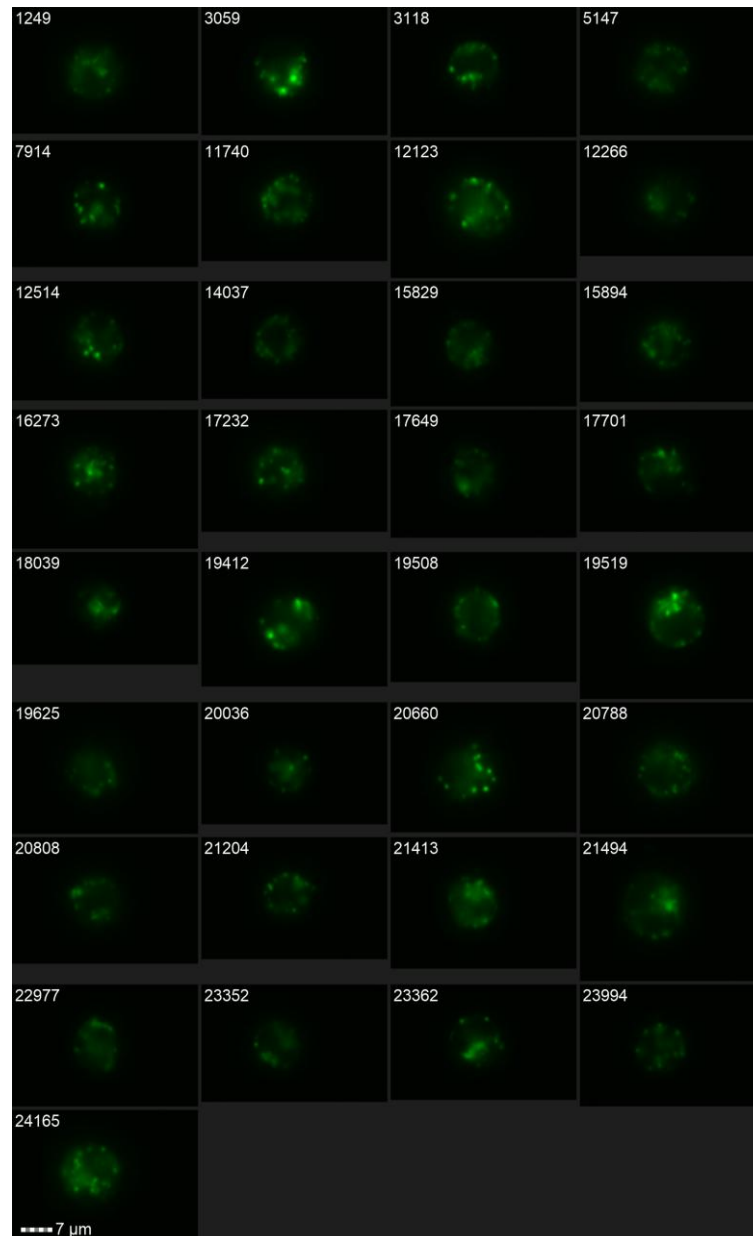


Jurkat

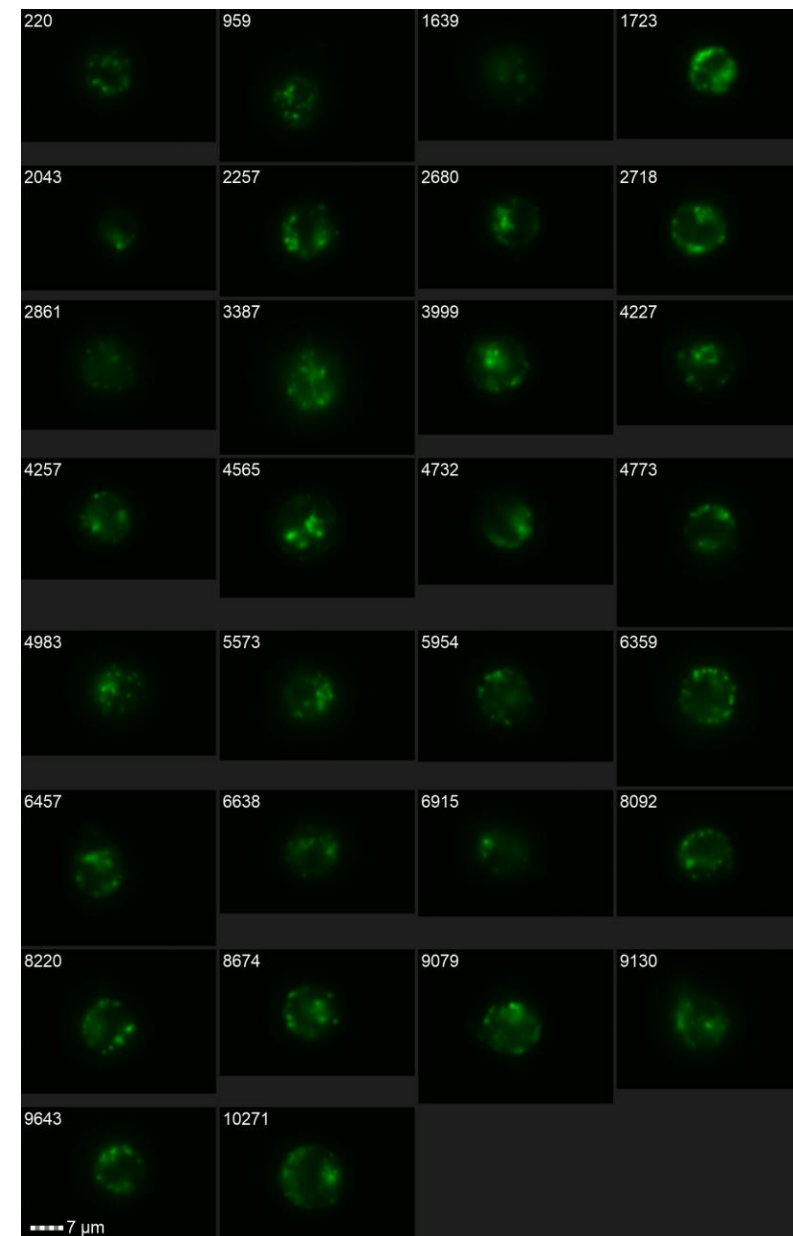


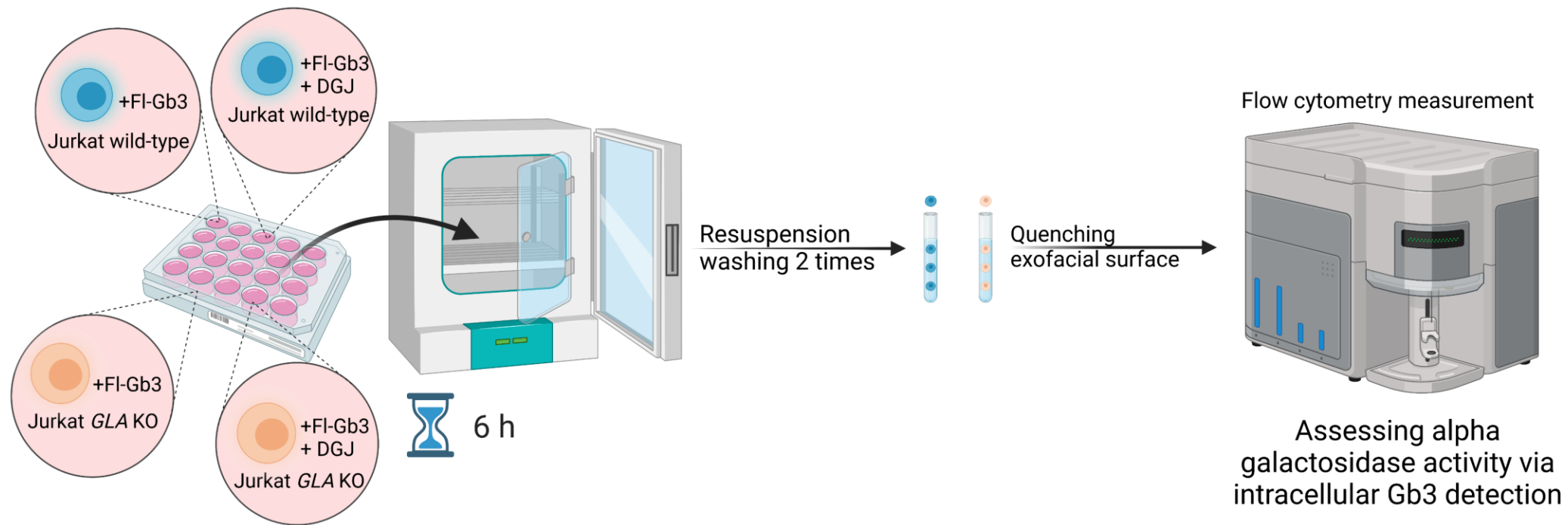
Eredmények (8)

Jurkat GLA KO Gb3

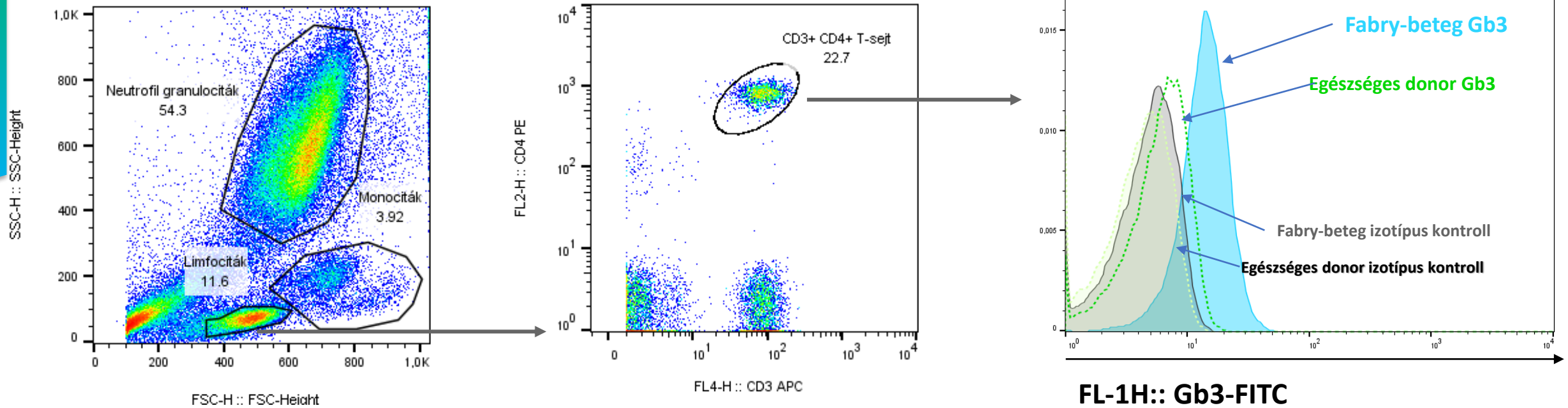


Jurkat GLA KO Gb3+ DGI

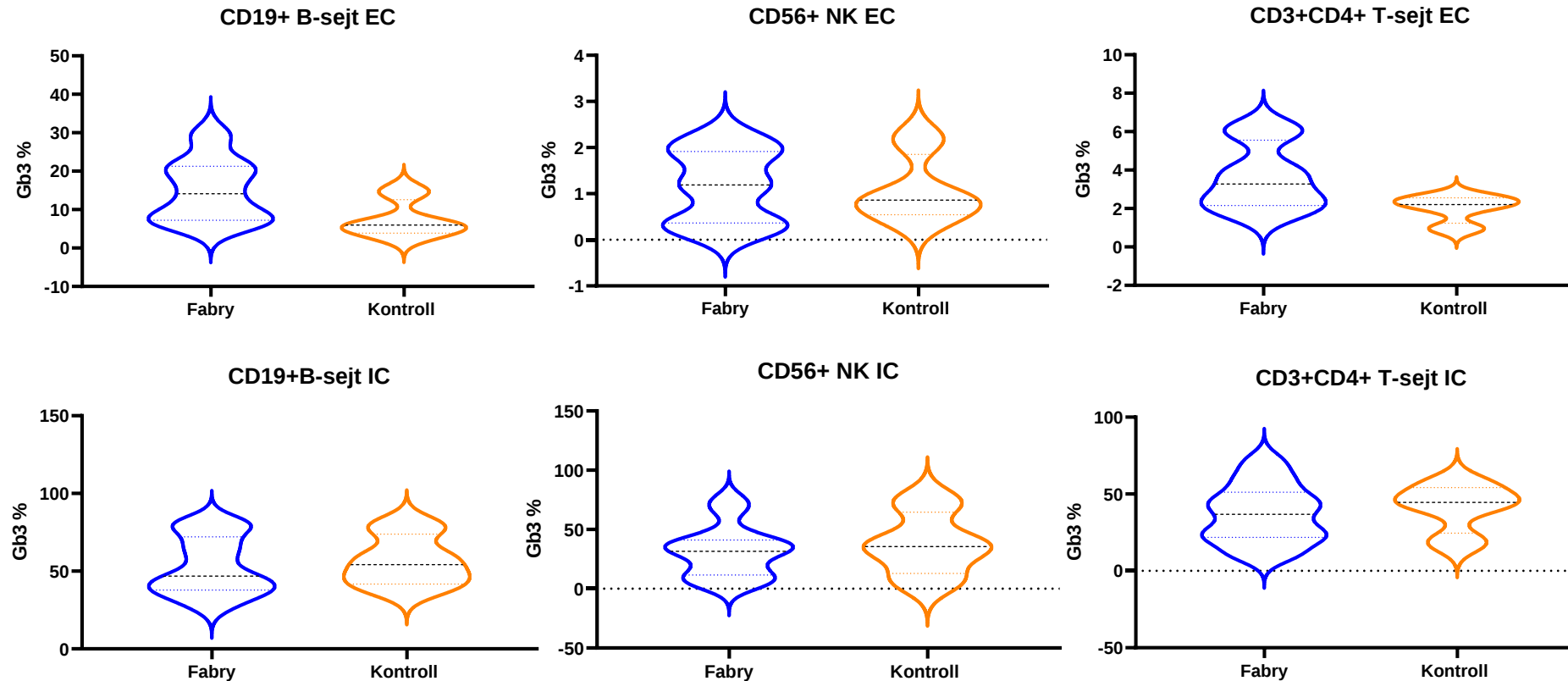




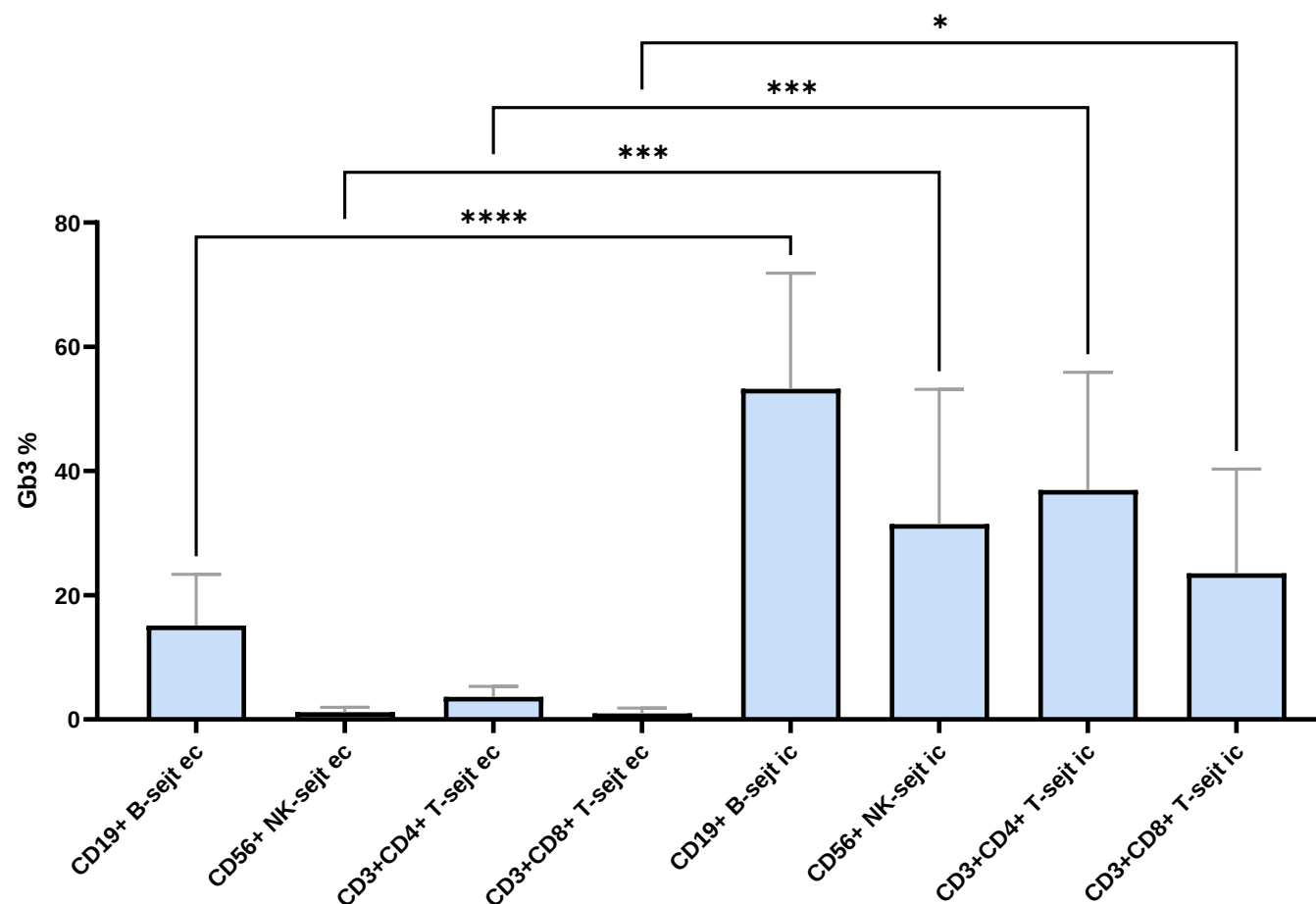
A Fabry-betegek CD3+/CD4+ T-sejtjeiben Gb3 felhalmozódás figyelhető meg az egészséges donorokhoz képest.



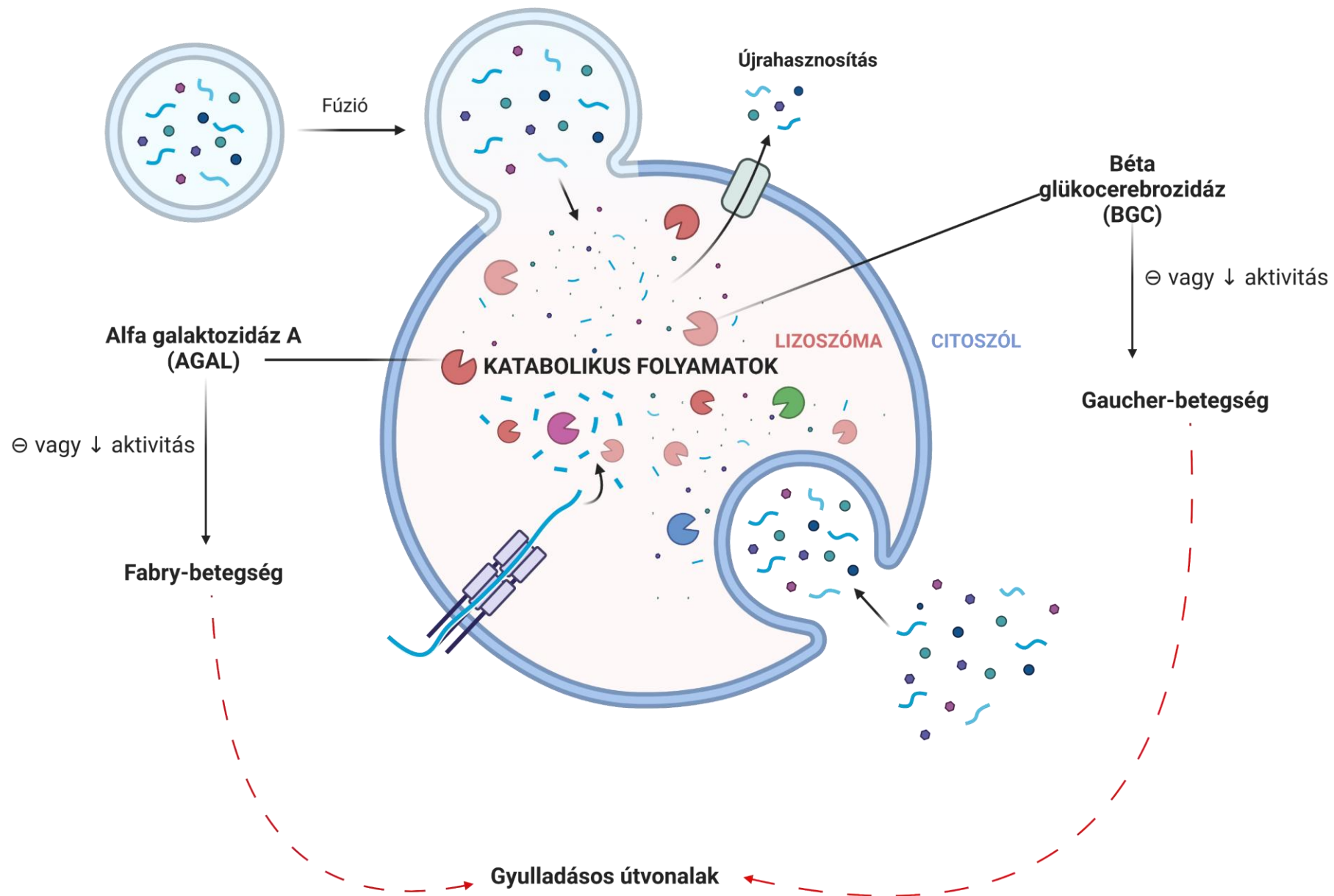
A Gb3 jelenléte Fabry-betegek és kontroll egyének keringő limfocitáiban egyaránt detektálható.



Az intracelluláris Gb3 jelenléte a sejtek nagyobb arányában mutatható ki.



* p<0,05; *** p<0,001; **** p<0,0001, egyutas ANOVA, Dunnett's post hoc teszt



Egy-sejt szintű enzimaktivitás detektálására alkalmas áramlási citométeres esszét fejlesztettünk, amely várhatóan alkalmazható lesz szűrővizsgálatként a Fabry-betegség gyanújának felmerülése esetén, férfi és nőbetegek esetében egyaránt.

Előzetes eredményeink alapján a limfocita alcsoportok közül a $CD19^+$ B-sejtekben és $CD3^+CD4^+$ T-sejtekben észlelhető a legnagyobb szubsztrát felhalmozódás.

Gyermekegyógyászati Klinika

Prof. Dr. Fekete György
Prof. Dr. Kovács Gábor
Prof. Dr. Szabó Attila
Abonyi Tünde
Görög Tímea
és a Klinika további munkatársainak

Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Prof. Dr. Buzás Edit
Fekete Nóra
Dr. Pállinger Éva
Nagy Bence

Patológiai és Kísérletes Rákkutató Intézet

Prof. Dr. Bödör Csaba
Dr. Hegyi Lajos

Egy-Sejt Molekuláris Kutatócsoport(ESMK)

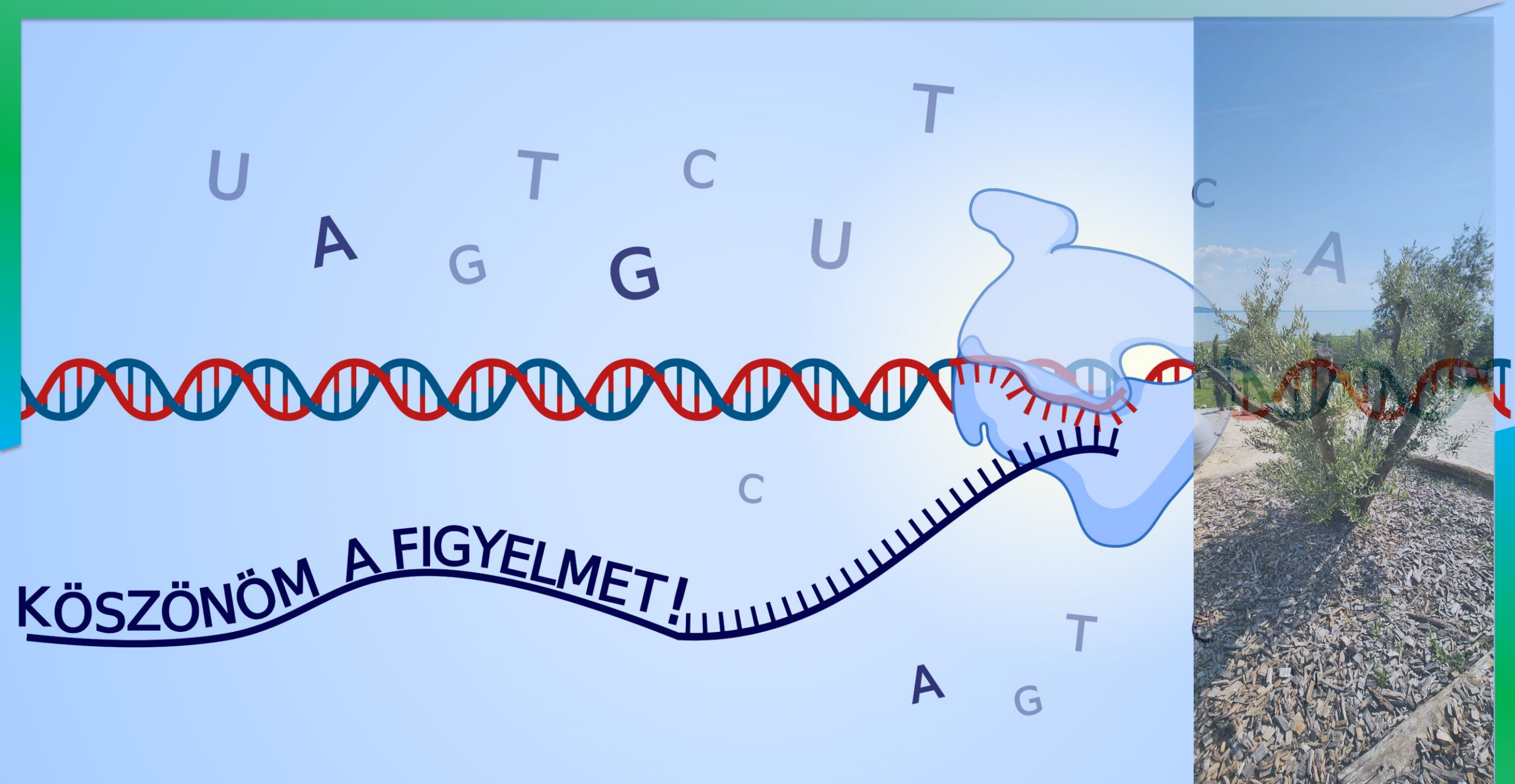
Botos Péter, orvostanhallgató
Erhardt Júlia, orvostanhallgató
Jenei Sámuel, BSc hallgató
Dr. Kovács Árpád Ferenc
Kovács Sándor, PhD hallgató
Li Luca Kamilla, MSc hallgató
Dr. Ruzsics Dalma, PhD hallgató



Fabry-Munkacsoport

Dr. Reismann Péter
Dr. Schnabel Karolina
a Munkacsoport minden
további tagjának!

NKFIH OTKA PD138521, MTA PC2022/9-2022



KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

