

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Orosz Petronella Éva

**Vesebetegségek háttérében álló genetikai eltérések
vizsgálata**

DEBRECENI EGYETEM

LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2024

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Vesebetegségek háttérében álló genetikai eltérések
vizsgálata**

Dr. Orosz Petronella Éva

Témavezető: Dr. Szabó Tamás



DEBRECENI EGYETEM

LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2024

Tartalomjegyzék

ÁBRÁK JEGYZÉKE	4
KÉPEK JEGYZÉKE	4
TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE	4
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	5
1 BEVEZETÉS.....	8
2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	10
2.1 Autoszomális recesszív policisztás vesebetegség	10
2.2 Autoszomális domináns policisztás vesebetegség	13
2.3 Nephronophthisis	15
2.4 Autoszomális domináns tubulointersticiális vesebetegség	18
2.5 Sclerosis tuberosa.....	21
2.6 TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma.....	25
2.7 Genetikai vizsgálómódszerek	26
2.8 Célkitűzés.....	28
3 BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	30
3.1 ARPKD betegek vizsgálata.....	30
3.2 TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával élő betegek vizsgálata	31
3.3 Genetikai vizsgáló módszerek alkalmazása	33
3.3.1 ARPKD betegek genetikai vizsgálatai	33
3.3.1.1 PKHD1 gén szekvenálása, MLPA vizsgálata	33
3.3.1.2 Second locus mutációk vizsgálata	34
3.3.1.3 Klinikai exom szekvenálás.....	34
3.3.2 A TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma genetikai vizsgálata	34
4 EREDMÉNYEK.....	35
4.1 ARPKD betegek vizsgálatának eredményei	35
4.2 TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával élő betegek vizsgálatának eredményei	41
5 MEGBESZÉLÉS	48
5.1 ARPKD betegek megbeszélése.....	48
5.2 TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával élő betegek megbeszélése ...	55
5.3 Következtetések ARPKD és TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával vizsgált betegekről	62
6 ÖSSZEFOGLALÁS/SUMMARY	63
7 IRODALOMJEGYZÉK.....	65
7.1 Előző fejezetekben hivatkozott közlemények jegyzéke.....	65
7.2 Saját publikációk jegyzéke.....	74
8 TÁRGYSZAVAK.....	76
9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	76
10 FÜGGELÉK.....	77

Ábrák jegyzéke

- 1.ábra** A primer cilium sémás ábrája, hossz- és keresztmetszeti kép – 9. oldal
- 2.ábra** A fibrocisztin struktúrájának sémás ábrája – 11. oldal
- 3.ábra** A policisztin 1 és policisztin 2 sémás ábrázolása – 14. oldal
- 4.ábra** Az mTOR fehérje sémás ábrája – 22. oldal
- 5.ábra** Az mTORC1 és mTORC2 komplex fehérjéinek sematikus ábrája, a jelentősebb jelátviteli útvonalak jelzésével – 23. oldal
- 6.ábra** A mutációk vizsgálatának algoritmus a klinikai jegyek alapján valószínűsített autoszomális recesszív policisztás vesebeteg gyermekek körében – 36. oldal
- 7.ábra** A renális túlélés összehasonlítása a PKHD1 mutációt és a „second locus” mutációt hordozó gyermekek körében – 37. oldal
- 8.ábra** Sematikus ábra a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával élő betegeknél érintett génszakaszokról – 46. oldal

Képek jegyzéke

- 1.kép** A 4 TSC2-PKD1-FGDS beteg hasi ultrahang és hasi MRI vizsgálatának egy-egy képe – 46. oldal
- 2.kép** A PKHD1 mutáció negatív páciensek ultrahang vizsgálatának összefoglalója – 54. oldal

Táblázatok jegyzéke

- 1.táblázat** Az extrarenális tünetekkel társuló nephronophthisis szindrómák klinikai jellemzői – 17. oldal
- 2.táblázat** Nephronophthisis betegség típusai és a kóroki gének – 17-18. oldal
- 3.táblázat** A sclerosis tuberosa major és minor kritériumtünetei (A Nemzetközi Tuberous Sclerosis Complex Konszenzus Munkacsoport irányelve alapján) – 32. oldal
- 4.táblázat** A PKHD1 mutációt hordozó betegek klinikai adatainak összesítése – 38-39. oldal
- 5.táblázat** A „second locus” mutációt hordozó betegek klinikai adatainak összesítése – 40. oldal
- 6.táblázat** Az első TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat) – 42. oldal
- 7.táblázat** A második TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat) – 43. oldal
- 8.táblázat** A harmadik TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat) – 44. oldal

9.táblázat A negyedik TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat) – 45. oldal

10.táblázat A 4 TSC2-PKD1-FGDS beteg genetikai vizsgálatainak összesítése a deletált exonok pontos megjelölésével – 47. oldal

11.táblázat A vizsgált TSC2-PKD1-FGDS betegek tünetei a sclerosis tuberosa diagnosztikai kritériumrendszerének tükrében – 47. oldal

Rövidítések jegyzéke

ACE - angiotenzin konvertáz enzim

ARB - angiotenzin receptor blokkoló

ADPKD – autoszomális domináns policisztás vesebetegség

ADPLD - autoszomális domináns policisztás májbetegség

ADTKD - autoszomális domináns tubulointersticiális vesebetegségek

AML - angiomyolipoma

ARPKD - autoszomális recesszív policisztás vesebetegség

AS - abnormis struktúra

CAKUT - congenital anomalies of the kidney and urinary tract

CAML - kalcium moduláló cyclophilint kötő fehérje

cAMP – ciklikus adenozil monofoszfát

CES - clinical exome sequencing

CHS - cholestasis,

CKD - chronic kidney disease

CS - család

COACH sy: cerebellar vermis hypo/aplasia - oligophrenia – ataxia – coloboma (ocular) - hepatic fibrosis szindróma

DG – diagnózis

EEG – elektroencefalogram

EGF – epidermal growth factor (epidermális növekedési faktor)

EGFR - epidermal growth factor receptor (epidermális növekedési faktor receptor)

EME - emelkedett májenzimek

ESRD - end-stage renal disease

F – fibrózis

FSGS – focalis segmentalis glomerulosclerosis
GFR – glomeruláris filtrációs ráta
GH - gesztációs hét
HET - heterozigóta
HM - hepatomegalia
HOM - homozigóta
HSM - hepatosplenomegalia
HT - hipertónia
IFT - intraflagelláris transzport
IU - intrauterin
KDIGO – kidney disease: improving global outcomes
KTx – vesetranszplantáció
LTx - májtranszplantáció,
M - maternális
MC - májcisza
MCKD - medullary cystic kidney disease
MLPA – multiplex ligation-dependent probe amplification
MODY5 - maturity-onset diabetes of the young type 5
mTOR – mammalian target of rapamycin
mTORC – mammalian target of rapamycin komplex
N - normál
NA - nincs adat
NGS - next generation sequencing
NPHP - nephronophthisis
P - paternális
P/Pt - páciens
PCR – polimerase chain reaction (polimeráz láncreakció)
PDK1 - phosphoinositide-dependens kináz 1
PI3K - foszfatidil-3-kináz
RAAS - renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer

RCAD - renal cysts and diabetes (cisztás vese és diabétesz szindróma)

Resp. igény - respiráció (lélegeztetési) igény

SDS - standard deviation score

SEGA – subependymal giant cell astrocytoma (óriássejtes astrocytoma)

SEN - subependymalis nodulusok

TK - transzkriptum

TRP - transient receptor potential

TSC - sclerosis tuberosa

TSC2-PKD1-FGDS - TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma

VE - veseelégtelenség

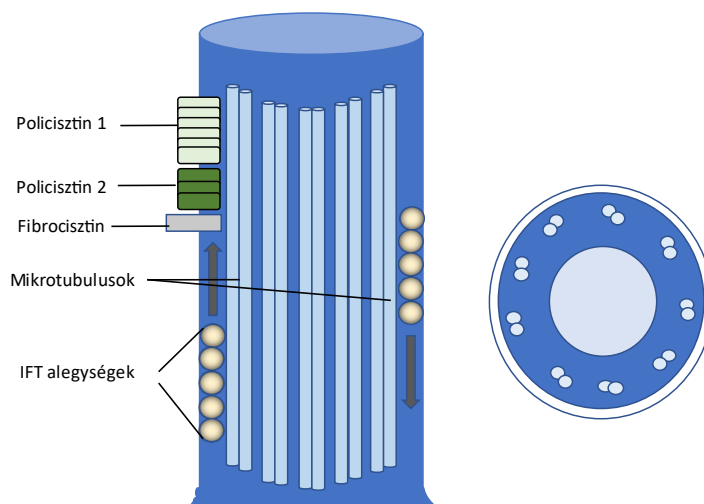
WES - whole exome sequencing

1 BEVEZETÉS

Az öröklődő, genetikailag meghatározott vesebetegségek nagy csoportja számos embert érint szerte a világban. Tanulmányok szerint a végstádiumú veseelégtelenség miatt vesepótló kezelésre szoruló betegek legalább 10-15%-a genetikailag meghatározott vesebetegségben szenved [1-4], de pontos adatok sok esetben csak megközelítőleg állnak rendelkezésre a kórképek sokszínűsége, és az olykor késedelmes diagnosztika miatt. A vesefunkció romlása ugyanis alattomosan, tünetek nélkül zajlik mindaddig, míg a közepesen beszűkült vesefunkció előidézte renovaszkuláris hipertónia, vagy a végstádiumú veseelégtelenség, urémia tünetei fel nem hívják rá a figyelmet. Akik ezen stádiumok idején kerülnek orvosi látókörbe, már nem kifejezetten csak az alap betegségre specifikus tüneteket hordozzák, hanem a krónikus veseelégtelenség általános tüneteit is, ami sokszor megnehezíti a pontos diagnózis felállítását. Előfordul, hogy a kialakuló renális fibrózis, hegesedés a szövettani vizsgálat értékelését is lehetetlenné teszi. Így a felnőttkorú betegeknél gyakori az „ismeretlen etiológiájú krónikus vesebetegség” megnevezés, ami ellehetetleníti a megfelelő terápiás és utánkövetési stratégia kialakítását, az érintett családok részére a genetikai tanácsadást. Mindez kiemeli annak fontosságát, hogy ezeket a betegségeket már lehetőség szerint gyermekkorban diagnosztizáljuk, noha legtöbb esetben gyógymód nincs, a kórképek többnyire a vesefunkció teljes elvesztéséhez vezetnek, melyre megoldást a vesetranszplantáció jelenthet. A diagnosztikát nehezítő tényezők a nem típusos formában megjelenő kórkép, a családi anamnézis hiánya, vagy negativitása (de novo mutációk esetén), a genotípus-fenotípus összefüggések ismeretének hiánya és az észlelt tünetek nem megfelelő értékelése. A genetikai vizsgálómódszerek fejlődésével azonban egyre pontosabban lehet meghatározni a kóroki mutációt. Ezek költséges vizsgálati eljárások, emiatt megfontoltan, a lehetőségekhez mérten célzottan kell alkalmazni őket. Kiemelten fontos tehát a klinikum, a fenotípus megfigyelése, szükség szerint időszakos újraértékelése.

Az örökletes vesebetegségek közül talán a policisztás vesebetegségek a legjelentősebbek. Noha monogénis betegségek, genetikailag, fenotípusosan és allélikusan heterogén kórképek. Az ide sorolt entitások a ciliopátiák nagy csoportjába tartoznak, amik a primer ciliumokat (csillókat) felépítő, azokkal kapcsolatban álló fehérjék mutációival magyarázhatóak. A primer ciliumok számos humán sejten, szövetspecifikusan előforduló, így a renális tubulussejtek apikális felszínén is megtalálható, sejtmembránnal borított sejtplazmamyúlványok (1. ábra) [5]. A mikrotubulus alapú ciliumok az axonémális felépítésük szerint sorolhatóak motilis (9+2 mikrotubulus pár) vagy nem motilis (9+0 mikrotubulus pár)

csoportba. Utóbbi felel meg a primer ciliumoknak, ami 75%-ban a humán sejteken is megtalálható [6]. Mivel a ciliumok nem képesek szintetizálni saját fehérjéiket, a specifikus intraflagelláris transzport (IFT) komplex révén, vezikuláris fehérje szállítás segítségével kerülnek a szükséges proteinek a csillókba [7]. A primer ciliumok különböző jelátviteli útvonalak (mTOR, cAMP) révén szabályozzák a sejtosztódást, a migrációt, az apoptózist és a differenciálódást [8, 9], vagyis a szövetek épségét. A vesében csupán szenzoros funkcióval bíró ciliumokat több, mint 600 féle fehérje építi fel, mikrotubuláris szerkezetet alkotva. Jelenleg több, mint 950 gént azonosítottak ciliopátiák hátterében [6], melyek között a policisztás vesebetegségekkel összefüggésbe hozható gének is szerepelnek. Az extrarenális tünetek kialakulását magyarázza, hogy a ciliumok egyéb szervekben is megtalálhatóak, és részt vesznek a látás, szaglás, mechano- és termoszenzitivitás folyamatában.



1.ábra A primer cilium sémás ábrája, hossz- és keresztmetszeti kép. A nem motilis ciliumban 9 külső mikrotubulus pár van, nincs belső, centrális mikrotubulus. A receptorok, ciliáris komponensek és szignál fehérjék retrográd és anterográd irányba mozognak az axonéma körül az intraflagelláris transzport (IFT) komplex működése révén. A policisztás vesebetegségekkel összefüggésben álló policisztin 1 és 2, valamint a fibrocisztin a cilium apikális membránjában találhatóak.

A mindkét vesében megjelenő, élethosszig növekvő ciszták jellemzően az autoszomális recesszív policisztás vesebetegsége (ARPKD) és az autoszomális domináns policisztás vesebetegsége (ADPKD) utalnak. A ciszták többnyire a tubuláris epitélisejtekből alakulnak ki, azok szervezetlen, nagyfokú osztódása, csökkent apoptózisa révén, ami fokozott folyadék szekrécióval és akkumulációval társul [10, 11]. A ciszták az ép parenchyma mikrovaskuláris

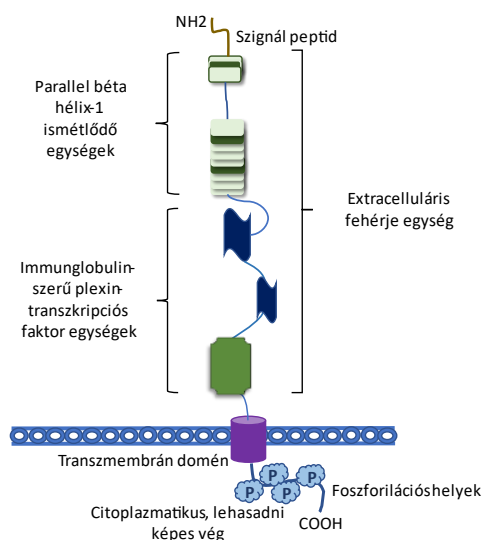
keringését komprimálják, ami szöveti károsodás révén szisztémás inflammatorikus választ generál [12, 13]. A renális homeosztázis felbomlása végül a vesefunkció progresszív károsodásához vezet. Differenciáldiagnosztikai szempontból azonban egyéb, renális cisztás elváltozással járó ciliopátiák is felmerülhetnek, úgymint a nephronophthisis (NPHP), az autoszomális domináns tubulointersticiális vesebetegségek (ADTKD) körébe tartozó megbetegedések és a sclerosis tuberosa (TSC). Az elkülönítésben segíthet a veseérintettség felfedezésének időpontja, a képalkotó vizsgálat során leírt eltérések (hiperreflektivitás, ciszták jelenléte, elhelyezkedése, mérete), a vesék hosszanti (kranio-kaudális) átmérője, az üregrendszer megjelenése, a vesefunkció időbeli változása. A renális hipertónia megjelenése általános tünet, gyakran korrelál a vesefunkció károsodásának mértékével, ám bizonyos kórképek esetén akár első tünet is lehet. Fontos az extrarenális tünetek keresése és nyomon követése, ciszták előfordulása májban, lépben, hasnyálmirigyben, intrakraniális aneurizmák azonosítása, májfibrózis, idegrendszeri érintettség, mentális elmaradottság, retina elváltozások, avagy diabetesre utaló jelek, illetve a bőrtünetek.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 AUTOSZOMÁLIS RECESSÍV POLICISZTÁS VESEBETEGSÉG

Az autoszomális recesszív policisztás vesebetegség jelentett prevalenciája 1:20000 Európában [14], a mutáció hordozás gyakorisága 1:70 [15]. A sokáig egyetlen génhez kötött ARPKD genetikai homogenitása csak néhány éve dőlt meg. Jelen ismeretek szerint főként a PKHD1 (polycystic kidney and hepatic disease 1) gén mutációi okozzák, de 2017-ben Bergman és munkatársai leírták a DZIPL1 gén (DAZ interacting zincfinger protein-like 1) kóroki szerepét enyhe fenotípussal járó ARPKD esetekben [16]. Néhány éve a policisztás vesebetegség és hiperinzulinémiás hipoglikémia társulásának hátterében pedig a PMM2 (phosphomannomutase 2) promóterének mutációját azonosították [17]. A PKHD1 gén a 6p21 kromoszómán található, teljes kiterjedésében 86 exon méretű, a géntermék számos fehérje izoformában transzlálódik, melyek szerepe nem egyértelmű. A leghosszabb nyitott olvasási keret 67 exon méretű, génterméke, a fibrocisztin nevű fehérje 4074 aminosavból épül fel, melynek vizsgálata nagy molekulamérete miatt sokáig nehézkes volt. Jelenleg azonban már ismert, hogy a protein struktúrája receptorszerű, kiterjedt extracelluláris N-terminális

doménból, egy transzmembrán doménból, és egy rövid C-terminális citoplazmatikus egységből épül fel (2. ábra) [18]. Az N-terminális szegmens parallel ismétlődő béta hélix-1 egységeket, továbbá immunglobulin-szerű plexin-transzkripció faktor egységeket tartalmaz [18], melyek funkciója nem tisztázott. A fibrocisztin speciális motívummal a primer cilium plazmamebránjához és egyéb sejtorganellumokhoz is kapcsolódik [19, 20]. Egy specifikus Notch-szerű hasítási helynek köszönhetően a citoplazmatikus farok domén proteolízis révén lehasadhat, majd a sejtmagba transzlokálódik, hogy ott bizonyos „downstream” célgénnek átírását szabályozza, feltételezeten a ciszták kialakulásáért felelős génekét is [14, 21, 22]. Ugyanakkor a lehasadó C-terminális vég antagonizálhatja is a fibrocisztin alapvető funkcióját. A teljes hosszúságában kifejeződő fibrocisztin a foszfatidil-3-kináz (PI3K) / Akt / mTOR útvonal működését gátolja, egyéb fehérjepartnerekkel kapcsolódva [23]. Amennyiben azonban a lehasadó C-terminális farok overexpressziója bekövetkezik, gátolja ezt a hatást, így a PI3K aktiváció fokozódik, és az egyensúly az mTOR működés fokozódásának irányába tolódik [23]. Ennek magyarázata lehet, hogy a C-terminális vég kompetitíven kötődik ugyanazon funkcionális helyekhez, mint a fibrocisztin, vagy a megfelelő fehérjék sejtmagba szekvesztrálásával a teljes hosszúságú fibrocisztin fiziológiás funkcióját módosítja [23]. Ehhez hasonló hatású a mutáció következtében elvesztett fehérjetermék, hiszen így a gátló működés nem alakul ki, az mTOR túlzott aktivációja pedig fokozott sejtprolifrációt eredményez. Mindez kulcsfontosságú lehet a cisztaképződés progressziójában. Érdekesség, hogy a teljes hosszúságú fehérje overexpressziója triggereli a C-terminális vég lehasadását, noha feltételezhető, hogy ez nem a Notch-szerű útvonalon megy végbe, hanem egy funkciónyerés révén [22].



2.ábra A fibrocisztin struktúrájának sémás ábrája.

Emellett a fibrocisztin a sejtek kalciumszabályozásában is szerepet játszik, egyrészt a CAML (calcium modulating cyclophilin ligand) fehérjével lép kölcsönhatásba [24], másrészt kapcsolódik a policisztin-2 fehérjével is. A policisztin-2 önmagában egy kalcium-permeábilis kationcsatorna, csatornaműködését a policisztin-1 illetve a fibrocisztin szabályozza [25-27]. A fibrocisztin a glomerulus disztális kanyarulatok csatornáin és a gyűjtőcsatornákon expresszálódik, továbbá az epeutak epitél sejtjein. Ennek megfelelően főként a gyűjtőcsatornában alakulnak ki a fuziformis tárgyak, cisztózus képletek, a máj fibrocisztás elváltozása mellett.

A gént érintő mutációk típusa meghatározó a kórkép megjelenését illetően, azonban az individuális mutáció helye alapján nem vonhatók le további következtetések [14, 28]. Ahogyan számos tanulmányban megállapították, a homozigóta trunkáns mutáció letális, perinatális halálozással jár. Egy trunkáns és egy misszensz mutációt hordozó betegek prognózisa lényegesen jobb, nem különíthető el a két misszensz mutációt hordozó betegektől [28]. Sok esetben a trunkáns fehérjetermékek nem rendelkeznek transzmembrán doménnel, így azok nem kötődnek az epitél sejtek felszínéhez, transzlációjuk rejtve marad [18]. Mindezek mellett számos környezeti faktor befolyásolja a kórkép megjelenését, így törvényszerű genotípus-fenotípus összefüggések nem állapíthatóak meg [15].

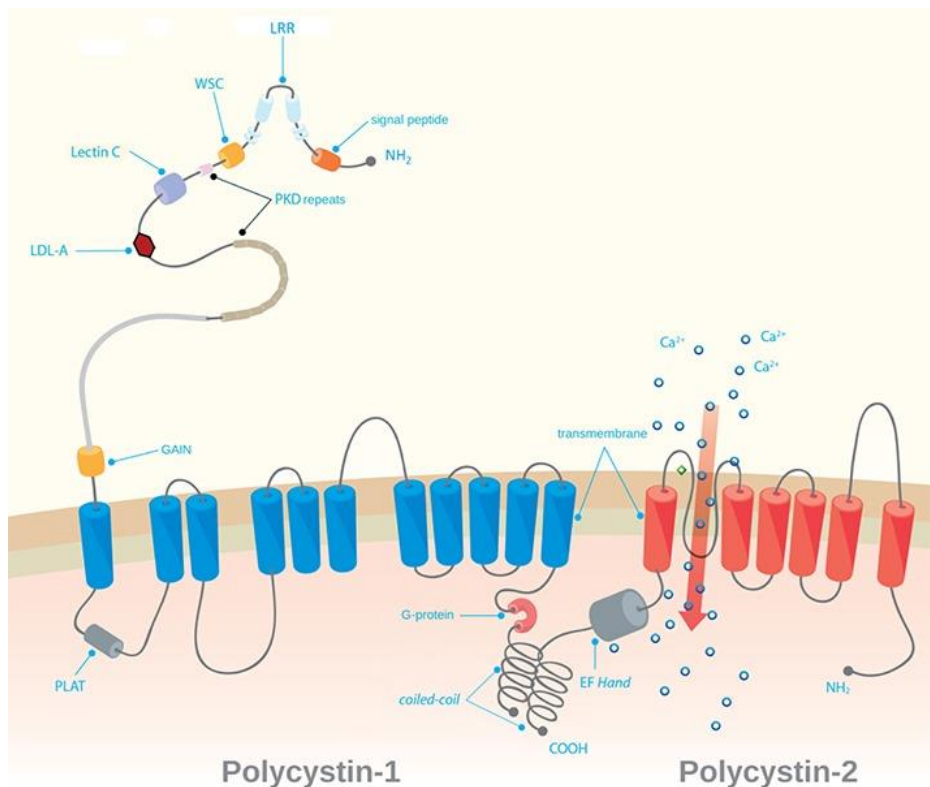
Általánosságban azonban elmondható, hogy az ARPKD típusosan korai megjelenésű, jellegzetesen már intrauterin felismerhető. A klinikai kép azonban széles skálán mozog a perinatális halálozással járó súlyos kórleptől az enyhe, felnőtt korban jelentkező krónikus veseelégtelenségig. Súlyos esetekben a fejlődő magzatban már a 30. gesztációs hét előtt felismerhetők a kétoldali megnagyobbodott, hiperechogén vesék, multiplex cisztákkal, megjelenik a húgyhólyag telődésének hiánya, az oligohidramnion. Az extrém mértékben megnagyobbodott vesék miatt szekunder tüdő-hipoplázia, majd újszülött korban súlyos légzési elégtelenség alakul ki. Az érintettek 30%-a újszülött korban exitál [15]. Legsúlyosabb esetben jellegzetes „Potter fenotípus” (disz-morf arckarakter, dongaláb) alakul ki. Poszt-natálisan már vizualizálható a kortikomedulláris differenciáció elmosódottsága, a számtalan apró, néhány milliméter átmérőjű ciszta jelenléte a vesékben, mely inkább fokozott veseállományi echogenitásként kerül leírásra. A későbbi élet éveket megélő betegpopulációban már 1-2 centiméteres renális ciszták is észlelhetők, de jellemzően nem haladja meg a ciszták átmérője ezt a tartományt. A vesefunkció hanyatlása korán bekövetkezik, ehhez társulva korai, súlyos, sokszor terápia-rezisztens renovaszkuláris hipertónia kialakulásával kell számolni. A végstádiumú veseelégtelenség kialakulása az első két életévtizedre tehető. Ekkor a progrediáló intersticiális fibrózis miatt a vesék mérete akár csökkenhet is. A májfibrózis obligát tünet, mely

sokáig rejtve maradhat, de májérintettség a betegek 50%-ában már csecsemőkorban kialakul [29]. Az epeutak tágulata és a fibrózis a ductális lemez malformációjának következménye. Az előrehaladott májfibrózis portális hipertenzióhoz, varixok kialakuláshoz vezet, melyek ruptúrájával életveszélyes vérzés léphet fel. A betegek kombinált vese- és májtranszplantációra való felkészítése szükséges.

A DZIP1L gén 16 exonból áll, az általa kódolt szolubilis cink-ujj fehérje mindössze 767 aminosavból épül fel. A septin2 fehérjével kapcsolódva a periciliáris diffúziós barrier fenntartásáért, illetve a géntermékek ciliáris axonémába transzportálásáért felel. Mutációja esetén a policisztin fehérjék membrán transzlokációja sérül, azok működése így megghiúsul [14-16]. Eddig ritkán azonosították a gén mutációját ARPKD betegeknél, azt azonban már tudjuk, hogy a PKHD1 génben homozigóta misszensz mutációt hordozó betegek fenotípusa hasonló, a DZIP1L génben homozigóta trunkáns mutációt hordozókéval, vagyis utóbbi enyhébb fenotípust eredményez [15].

2.2 AUTOSZOMÁLIS DOMINÁNS POLICISZTÁS VESEBETEGSÉG

A policisztás vesebetegség leggyakoribb formája az ADPKD, prevalenciája 1:1000 [30]. Jellemzően felnőttkorban nyilvánul meg, noha a ciszták képződése már akár in utero megkezdődik. Az esetek 80-85%-ában a PKD1, 10-15%-ában a PKD2 gén érintettsége áll háttérben. Hozzávetőleg a betegek 5%-ában de novo alakul ki a mutáció. Jelenleg több, mint 2322 PKD1 és 278 PKD2 kóroki mutációt azonosítottak (<http://pkdb.pkdcure.org>). A PKD1 a policisztin 1 nevű, receptorszerű struktúrájú fehérjét kódolja, mely a 16p13.3 pozícióban található a kromoszómán. A PKD2 a 4p21 kromoszómapozícióban helyezkedik el, a policisztin 2 fehérjét kódolja, ami egy kalciumpermeábilis kationcsatorna, a TRP (transient receptor potential) családba sorolható. Utóbbi család jellegzetessége a 6 transzmembrán hélixet tartalmazó motívum, amelyeket egy intracelluláris amino- és karboxiterminális szegélyez. A policisztin 1 és 2 fehérjék heterodimer komplexet alkotnak a „coiled-coil” motívumok révén a karboxiterminális végükön (3. ábra) [14].



3.ábra A policisztin 1 és policisztin 2 sémás ábrázolása. A két transzmembrán fehérje „coiled-coil” motívumok révén kapcsolódik össze a citoplazmában. A policisztin 2 kalcium permeábilis kation csatorna, mely így az intracelluláris kalcium homeosztázis fenntartásában játszik fontos szerepet. (Forrás: Ferreira FM, Watanabe EH, Onuchic LF. Polycystins and Molecular Basis of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. In: Li X, editor. Polycystic Kidney Disease [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2015 Nov. Figure 1. [Domain structure of polycystins. Polycystin-1,...]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK373394/figure/fig7_1/ doi: 10.15586/codon.pkd.2015.ch7)

Az elnevezésben is jelzett domináns öröklésmenet ellenére sejtszinten recesszív a betegség kialakulása. Az érintett betegek csírasejtjeikben hordozott heterozigóta mutáció még nem elegendő a ciszták képződéséhez, egy második esemény (szomatikus inaktiváció, heterozigótaság elvesztése) szükséges, hogy a PKD1 vagy PKD2 a második allélon is funkcióját veszítse [31-33]. A cisztaképződés valószínűsége akkor növekszik meg jelentősen, ha a funkcionális policisztin 1 és 2 szintje egy adott határérték alá csökken. Vagyis a betegség lefolyása, súlyossága arányos a mutáció következtében megmaradó fehérjetermékkel [34-36]. Mindez megmagyarázza, hogy a fenotípus szintén széles skálán mozog a ritkán perinatálisan

megjelenő ciszták és korai hipertónia tüneteivel induló, súlyos, gyorsabban progrediáló formától a kifejezetten enyhe, csak a hetedik-nyolcadik életévtizedben kialakuló végstádiumú veseelégtelenségig. A ciszták a nefron bármely részén kialakulhatnak, leginkább a disztális szakaszokon, de a kéreg és a velőállomány egyaránt érintett. A kórkép jellegzetessége, hogy a ciszták mérete idővel minden esetben meghaladja a 2 centimétert, a vesék minden átmérője kifejezetten meghaladja az életkori átlagot. A vesetérfoggal arányos mértékű a hipertónia megjelenése, az ADPKD betegek mintegy 60%-ában megelőzi a vesefunkció érzékelhető károsodását [37]. Kialakulhatnak rekuráló húgyúti fertőzések, valamint a ciszták bevérvzése során észlelhető makroszkópos hematuria, általában spontán szűnő, keringés megingással nem járó állapot. Extrarenális tünetek között a májban, hasnyálmirigyben található ciszták mellett a ritkábban előforduló, de akár életveszélyes állapot előidézését magukban hordozó intrakraniális artériás aneurizmák jellemzőek. Az irodalomban fellelhető farmakoterápiás próbálkozások (mTOR inhibitor, vasopressin2 receptor agonista kezelés) ellenére a progressziót hatékonyan befolyásoló, általánosan alkalmazható kezelés nem áll rendelkezésre, megoldást a vesetranszplantáció jelent.

2016-ban fedezték fel, hogy a glükózidáz II enzim alfa egységét kódoló GANAB gén (11q12.3 lókusz) heterozigóta funkcióvesztő mutációja enyhe fenotípusos jegyekkel járó, ADPKD-szerű betegséget okoz [38]. A glükózidáz II enzim a policisztin-1 glikolizációjában játszik szerepet, ami a policisztin 1 és 2 membránlokalizációjához szükséges. A vesefunkció beszűkülése csak CKDII stádiumig jellemző az eddig közölt esetekben, de a májban található ciszták mérete, a májfunckió károsodása kifejezettebb [39, 40], akár súlyos, májtranszplantációt igénylő autoszomális domináns policisztás májbetegség (ADPLD) képében is megjelenhet.

2018-ban negyedikként a DNAJB11 (3q27.3 lókusz) által kódolt fehérje szerepét is leírták ADPKD kialakulásának patomechanizmusában [41]. Az endoplazmatikus retikulumban elhelyezkedő Bip (immunglobulin kötő) chaperon fehérje kofaktoraként működő DNAJB11 fehérje mutációja esetén ADPKD és ADTKD tüneteinek egyvelege alakulhat ki: a policisztás vesék mérete nem haladja meg az életkori átlagot, sőt, inkább intersticiális fibrózis, atrófia jellemzi, a ciszták mérete nem haladja meg a 2 centimétert, de a végstádiumú veseelégtelenség a betegek 50%-ában kialakul az ötödik életévtized után. A máj policisztás elváltozása kevesebb, mint a betegek felénél jelentkezett az eddig ismertett populációban.

2.3 NEPHRONOPHTHISIS

A nephronophthisis autoszomális recesszív öröklődésű, tubulointersticiális fibrózissal járó vesebetegség. Incidenciája 1:50000-1:1000000 körüli [42, 43]. Monogénes kórkép, de genetikailag heterogén, több, mint 20 gén mutációját azonosították a háttérben [44]. A primer ciliumban, a bazális testben és a centroszómában működő nefrocisztin fehérjét kódoló gének mutációi renális és extrarenális tünetek kialakulásáért is felelnek [43]. Alattomos betegségnek is mondható, hiszen az esetek többségét jelentő, izolált veseérintettséggel járó formában nincs speciális, figyelemfelkeltő tünet, ami miatt a szülő orvoshoz vinné gyermekét: nincs sem hematuria, sem proteinuria, a vesék kezdeti morfológiai képe ultrahangon gyakorta nem árulkodó, hipertónia csak a vesefunkció beszűkülésével párhuzamosan lép fel. Egyedüli jellegzetessége a vizelet koncentrálás elégtelensége miatt kialakuló poliuria-polidipszia, mely azonban nem olyan mértékű, ami egyéb tünet híján krónikus betegség benyomását keltene. Emiatt sokszor csak a végstádiumú veseelégtelenség állapotában kerülnek felismerésre ezek a betegek. Szövettanilag az intersticiális fibrózis mellett tubuláris atrófia, a bazális membrán elváltozása jellemzi. A fibrózis miatt a kezdetben normál, ritkán enyhén nagyobb méretű, hiperechogén vesék a későbbi életkorban zsugorodnak, sorvadnak, ahogyan a betegség neve is utal erre (phthisis görögül sorvadást jelent). Az esetleg kialakuló ciszták a kortextben, vagy kortikomedullárisan helyezkednek el, többnyire a vesefunkció beszűküléssel párhuzamosan, későbbi időszakban alakulnak ki, de nem szükségszerűen jelennek meg. A differenciáldiagnózist segítő extrarenális tünetek társulása a betegek mintegy 20%-ában fordul elő, retinitis pigmentosa, májfibrózis, kardiális, vázrendszeri és idegrendszeri eltérések azonosíthatók [45-47]. A kórképet infantilis és juvenilis típusra oszthatjuk a végstádiumú veseelégtelenség megjelenésének időpontjától függően. Gyakoribb a juvenilis forma (az esetek >90%-a). Jellemzője a korábban leírtakon túl a kifejezett anemia, a növekedési elmaradás, előrehaladott betegségben az enyhe hipertónia [45]. A juvenilis nephronophthisissal érintett betegek kevesebb, mint felében extrarenális tünetek is megjelennek. Leggyakrabban retinitis pigmentosa (Leber-féle congenitalis amaurosis, Senior-Looken-szindróma), 15%-ban a központi idegrendszeri érintettség jegyeit tükröző Joubert-szindróma, 10%-ban a májérintettséggel járó Boichis betegség (1.táblázat). A végstádiumú veseelégtelenség kialakulásának időpontja átlagosan 7-15 év [48]. Az esetek egyötödében a 2q13 lókuszon lévő NPHP1 (nephrocystin-1) mutációja, jellemzően az egész gént érintő homozigóta deléciója áll a háttérben, mely gyakran alakul ki de novo [49] (2.táblázat). Az infantilis forma ritkább, súlyos fenotípussal jelenik meg, már az első két életévben végstádiumú veseelégtelenség alakul ki. Megjelenésében hasonló lehet akár az ARPKD-hez, intrauterin felismerhető oligohidramnion, kétoldali megnagyobbodott vesékkel, de az elkülönítő kórismét segíti, hogy sosem extrém

nagyok a vesék. Az infantilis esetek 80%-ában vannak jelen extrarenális tünetek: 50%-ban májfibrózis, 20%-ban kardiális rendellenesség, 20%-ban gyakori alsó légúti infekció, 10%-ban situs inversus. Az infantilis forma kialakulásáért 75%-ban az NPHP2/INVS (9q21-22) gén felelős (2.táblázat), ami az inverzin fehérjét kódolja [50]. Az NPHP3 (3q21, nephrocystin-3) kóroki szerepét mind juvenilis, mind infantilis formában leírták [50] (2.táblázat). A TMEM67 mutációja Joubert-, vagy Meckel-Gruber-szindrómát okozhat [43, 51] (1.-2. táblázat). A nephronophthisis formák, és az extrarenális tünetekkel megjelenő szindrómák összefoglalása az 1. és a 2. táblázatban látható [50, 52-56].

1.táblázat Az extrarenális tünetekkel társuló nephronophthisis szindrómák klinikai jellemzői

Szindróma neve	Extrarenális tünetek
Joubert szindróma	májfibrózis, perinatális időszakban átmeneti légzéscsavar (tachypnoe/apnoe), axiális hipotónia, cerebellaris vermis hipoplázia, ataxia, mentális retardáció, koponya MRI-n örlőfog-jel, nystagmus
Senior-Looken-szindróma	retinitis pigmentosa
Meckel-Gruber szindróma	posterior encephalocoele, májfibrózis
Bardet-Biedl-szindróma	retinitis pigmentosa, postaxialis polydactylia, obezitás, mentális retardáció, hypogonadismus
Boichis betegség	májérzékenység
Jeune-szindróma	szűk mellkas, polydactylia, rövid végtagok
Sensenbrenner-szindróma	májfibrózis, retina dystrophia, szűk mellkas, rövid végtagok, brachydactylia, ízületi lazaság, növekedéscsökkenés és mentális elmaradás, dysmorph arckarakter, craniosynostosis, laza bőr, körömdysplasia
Mainzer-Saldino szindróma	retinadystrophia, ujjpercekben kúp alakú epiphysisek

2.táblázat Nephronophthisis betegség típusai és a kóroki gének

NPHP típus	Gén	Betegség, szindróma
NPHP1	<i>NPHP1</i>	Juvenilis NPHP, Senior-Looken-sy, Joubert sy
NPHP2	<i>INVS</i>	Infantilis NPHP, Senior-Looken-sy, situs inversus
NPHP3	<i>NPHP3</i>	Juvenilis/infantilis NPHP, Senior-Looken-sy, Meckel-Gruber sy
NPHP4	<i>NPHP4</i>	NPHP, Senior-Looken-sy
NPHP5	<i>IQCB1</i>	Senior-Looken-sy, Leber-féle congenitalis amaurosis
NPHP6	<i>CEP290</i>	Joubert sy, Bardet-Biedl sy, Meckel-Gruber sy, Leber-féle congenitalis amaurosis, Senior-Looken-sy,
NPHP7	<i>GLIS2</i>	NPHP
NPHP8	<i>RPGRIP1L</i>	Joubert sy, Meckel-Gruber sy

NPHP9	<i>NEK8</i>	Infantilis NPHP
NPHP10	<i>SDCCAG8</i>	Senior-Looken-sy, Bardet-Biedl-sy
NPHP11	<i>TMEM67</i>	NPHP, Joubert sy, Meckel-Gruber sy, COACH sy
NPHP12	<i>TTC21B</i>	NPHP, Joubert sy
NPHP13	<i>WDR19</i>	NPHP, Joubert sy, Sensenbrenner sy, Jeune-sy
NPHP14	<i>ZNF423</i>	Joubert sy
NPHP15	<i>CEP164</i>	NPHP, Senior-Looken-sy, Joubert sy
NPHP16	<i>ANKS6</i>	NPHP
NPHP17	<i>IFT172</i>	Jeune/Mainzer-Saldino sy
NPHP18	<i>CEP83</i>	Infantilis NPHP
NPHP19	<i>DCDC2</i>	NPHP, májfibrózis
NPHP20	<i>MAPKBP1</i>	NPHP
Joubert szindróma ³	<i>AHI1</i>	NPHP, Joubert sy
NPHPL1	<i>XPNPEP3</i>	NPHP
	<i>CC2D2A</i>	Joubert sy, COACH sy, Meckel-Gruber sy
	<i>ATXN10</i>	NPHP, spinocerebellaris ataxia
	<i>SLC41A1</i>	NPHP-szerű primer ciliaris dyskinesia
	<i>TRAF3IP1</i>	Senior-Looken-sy, NPHP
	<i>IFT122</i>	Sensenbrenner-sy
	<i>IFT127</i>	Bardet-Biedl-sy
	<i>IFT140</i>	Mainzer-Saldino-sy
	<i>IFT 143</i>	Sensenbrenner-sy
	<i>WDR35</i>	Sensenbrenner-sy

NPHP: nephronophthisis, COACH sy: cerebellar vermis hypo/aplasia-oligophrenia (mentális retardáció)-ataxia-ocular coloboma(szem coloboma)-hepatic fibrosis (májfibrózis) szindróma, sy: szindróma

2.4 AUTOSZOMÁLIS DOMINÁNS TUBULOINTERSTICÁLIS VESEBETEGSÉG

2015-ben a KDIGO konszenzus konferencia alapján határozta meg az autoszomális domináns tubulointersticiális vesebetegség (ADTKD) fogalmát [57]. Bár a nómenklatúra nem tökéletes, de jól rendszerezi a hasonló megjelenésű és öröklődésű kórképeket. Az autoszomális dominánsan öröklődő, nem glomeruláris érintettséggel, hanem progresszív tubulointersticiális fibrózissal járó betegségek csaknem mindegyike végstádiumú veseelégtelenség kialakulásához vezet. Az ide sorolható 4 kórkép monogénis öröklődésű, az érintett gének az UMOD (uromodulin), a MUC1 (mucin-1), a REN (renin) és a HNF1B (hepatocyte nuclear factor 1β). A penetrancia csaknem 100%. [57] Mindegyik gén a tubuláris sejteken expresszálódik, az

UMOD kizárólag a Henle kacs vastag felszálló szárán, a HNF1B egyéb szervek epitéliális sejtjein is. [58]

A kórképek megjelenését tekintve széles skálán mozog a tünettan, a vesekárosodás megjelenésének ideje. Közös azonban, hogy a vizsgálatok során a vizelet üledékben nincs eltérés, esetenként mikroszkópos hematuria jelen lehet, proteinuria sem jellemző. [59-61] A vesék legtöbbször normál méretűek, idővel inkább csökken a térfogatuk, ciszták a betegség előrehaladásával jelenhetnek meg [59-61]. Hipertónia csak a vesefunkció progresszív romlása esetén észlelhető, enyhe formában. Szövettani vizsgálat tubuláris atrófiát, intersticiális fibrózist jelez, megtartott glomerulusok mellett.

A hepatocytá nukleáris faktor-1 β egy transzkripció faktor, ami több, cisztás vesebetegség kialakulásában fontos szerepet játszó gén (PKHD1, PKD2, UMOD, GLIS2) átírását is szabályozza a primer ciliumokban. [62] A húgyúti rendszer embrionális fejlődése során az ureterbimbó és Wolff-cső növekedésének idejét, a korai nefrogenezist szabályozza. [63] Kifejeződik a nefronokban, és egyéb transzkripció faktorokkal (Emx-2, HNF4a, Pax-8) együtt a fibroblasztok funkcionális tubuláris epitél sejtekké programozását, majd a tubuláris iontranszport megfelelő működését is biztosítja. [58, 61, 64, 65] A HNF1B (17q12 lókuszt) deléciója esetén zavart szenved a tubuláris epitél kialakulása, és a primer ciliumok fehérjéinek downregulációjával a renális szövetek homeosztázisa, a sejtek további differenciálódása, osztódása, apoptózisa és migrációja. A következményes cisztaképződés pontos mechanizmusa azonban még nem teljesen ismert. A betegek 50%-ában a teljes gén heterozigóta deléciója azonosítható. A fennmaradó esetekben pontmutáció detektálható. De novo mutáció 30-50%-ban fordul elő [66], egyebekben autoszomális domináns módon öröklődik. A HNF1B heterozigóta mutációja tehát öröklött és sporadikus renális illetve genitourinális malformációkat, tubuláris és glomeruláris funkciózavart eredményezhet, széles skálán mozgó tünetekkel. Elsőként leírt kórkép a cisztás vese és diabétesz szindróma (RCAD: renal cysts and diabetes). Jellegzetessége, hogy a vese apró cisztás elváltozásai a kéregállományban mutatkoznak, perinatálisan akár az ARPKD-vel összetéveszthető mértékben hiperreflektív veseállomány észlelhető, a vesék kistokban megnagyobbodtak. Későbbi életkorban a vesék méretének növekedése elmarad, felnőttkorra már az átlagostól kisebb veseátmérő detektálható. A korán megjelenő diabétesz (MODY5: maturity-onset diabetes of the young type 5) általában inzulin kezelést igényel. Társulhat exokrin pankréász érintettség, ritkábban májfunkció zavar és a genitális traktus malformációja is. Ioneltérések, mint a hipomagnezémia, hipokalémia, és a hiperurikémia differenciál diagnosztikai segítséget is jelentenek. Az izolált renális hipoplázia,

agenézia, multicisztás vesediszplázia, a „CAKUT” (congenital anomalies of the kidney and urinary tract) háttérében is gyakran a HNF1B kóroki szerepe áll [65, 67, 68].

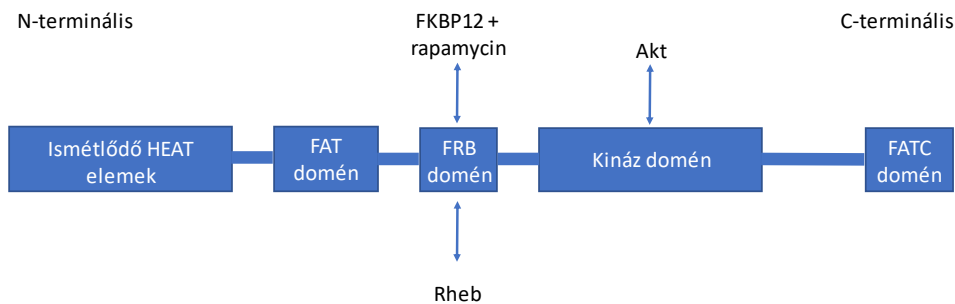
Korábban a nephronophthisis domináns formájának gondolt medulláris cisztás vesekomplexum (MCKD) két típusát tartotta számon az irodalom. A jelenlegi nómenklatúra az MCKD 1-es típusát, a háttérében álló MUC1 gén alapján mucin-1 vesebetegségnek (ADTKD-MUC1, Mucin-1 Kidney Disease), míg az MCKD 2-es típusát, avagy familiáris juvenilis hiperurikémiás nefropátiát ma már uromodulin-asszociált vesebetegségnek (ADTKD-UMOD, Uromodulin Associated Kidney Disease) nevezi [57]. A korábbi nevezéktan módosítása klinikai szempontból is fontos, hiszen sem a tubuláris apró ciszták, sem nagyobb ciszták jelenléte nem obligát tünete a kórképnek, az érintettek felében nem észlelhető. Azonban a nephronophthisissel való kapcsolatot mutatja a poliuria-polidipszia jellegzetes tünete mindkét kórképben. A MUC1 gén (1q22 lókuszt) által kódolt mucin-1 fehérje egy többszörösen glikozilált transzmembrán protein a különböző szövetek tubuláris sejtjeinek apikális felszínén. Mucin-1 vesebetegségben a MUC1 génben bekövetkező, legtöbbször „frameshift” mutáció nem a fehérjetermék elvesztését, hanem abnormis fehérjét eredményez. A kóros fehérje nem jut ki a sejt felszínére, hanem intracellulárisan felhalmozódik a Henle-kacs, a disztális tubulus és a gyűjtőcsatornák epitel sejtjeiben [69-71]. Az ADTKD-UMOD típusosan csökkent frakcionált urát exkrécióval jár, ami hiperurikémiához, korai, akár gyermekkori köszvény kialakulásához vezet. [60] A köszvény megjelenése az érintett család tagjaiban a diagnózis kulcsfontosságú része. Az UMOD (16p12.3 lókuszt) mutációja következtében a mucinhoz hasonlóan kóros szerkezetű uromodulin (más néven Tamm-Horsfall protein) fehérje keletkezik, ami felhalmozódik a Henle kacs vastag felszálló szárát alkotó sejtek endoplazmatikus retikulumában. A mitokondriumok károsodásával csökken a $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ kotranszporter működése is. Ezek eredményeképpen a vizelet koncentráls defektusa és a fokozott urát visszaszívás vezet a tünetek kialakulásához, az intracellulárisan felhalmozódó uromodulin pedig a sejtek és a vese károsodásához.

A legritkábban előforduló ADTKD a REN gén (1q32.1 lókuszt) heterozigóta, főként első exont érintő mutációja következtében alakul ki. A kórképre nem jellemző a ciszták előfordulása, sem a vesék megnagyobbodása, azonban az érintett betegeknél már gyermekkorban anemia alakul ki, mely eritropoetin kezelésre jól reagál és a pubertás ideje alatt megszűnik. Később, a lassan progrediáló krónikus vesebetegség tüneteivel együtt visszatér [72-74].

2.5 SCLEROSIS TUBEROSA

A sclerosis tuberosa autoszomális dominánsan öröklődő kórkép. Hátterében a TSC1 és TSC2 gének mutációinak szerepét írták le. A TSC1 gén a 9q34 kromoszómán helyezkedik el, 23 exonból áll, és a hamartin fehérjét kódolja. A kódolt fehérje 1164 aminosavból épül fel. A TSC2 gén a 16p13 pozícióban található, 42 exonból áll, a tuberin nevű fehérjét kódolja, mely 1807 aminosavból épül fel. A sclerosis tuberosával érintett betegek 70%-ában TSC2 gén mutációja, 20%-ában a TSC1 gén mutációja mutatható ki [75]. A betegek 10%-ánál nem igazolható kóroki mutáció a fenti génekben. A keletkező mutációk 60-70%-a de novo alakul ki [76]. A sclerosis tuberosával élő betegek minden szomatikus sejtben hordozzák a genetikai eltérést, de a szövettani struktúra és a sejt funkció mindaddig eltérés nélküli, amíg egy „second-hit” mutáció ki nem billenti egyensúlyából [77]. Ekkor benignus hamartomák jönnek létre a különböző szervekben. Ennek oka, a kódolt fehérjék funkciójában rejlik. A hamartin és a tuberin fehérjék kiemelt szerepet játszanak a sejtnövekedés és proliferáció szabályozásában, a phosphatidylinositole-3-kináz (PI3K) útvonalon keresztül, gátló hatást gyakorolva az mTOR (mammalian target of rapamycin) útvonalra.

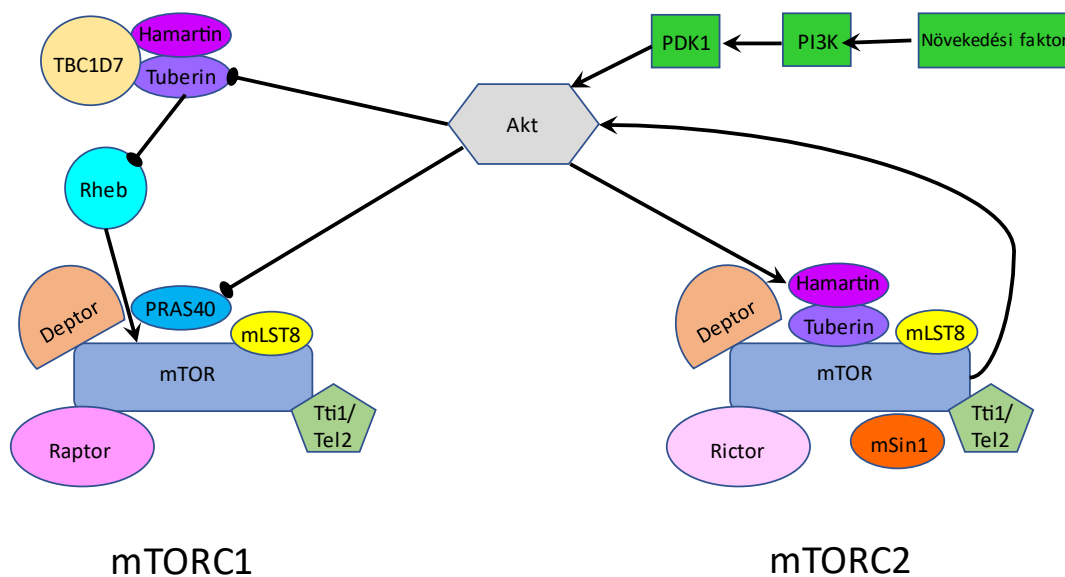
Az mTOR egy nagyméretű (240 kD), több doménből álló fehérje, amelyet az 1p36 kromoszómán lévő MTOR gén kódol [78, 79]. Az N-terminális rész ismétlődő HEAT elemeket (HEAT repeats: huntingtin, elongációs faktor 3, PP2A A alegysége, TOR1) tartalmaz (4. ábra). Ezek az ismétlődő régiók spirális szerkezetet alkotnak, amely lehetővé teszi a kölcsönhatást más fehérjékkel (Raptor és Rictor). A domén mellett helyezkedik el a FAT alegység, amely FRAP-ATM-TRAP további egységeket tartalmazza. A FAT domént az FRB domén követi, ahol az FKBP12-rapamycin komplex és más fehérjék kötődhetnek az mTOR-hoz. A kináz domén és a FAT-C domének a fehérje C-terminális részén található. A kináz doménben van az úgynevezett negatív szabályozó domén, amely szerint és treonint tartalmaz. Ezen aminosavak foszforilálásával szabályozható az mTOR aktivitása [78]. Az mTOR fehérje további fehérjékkel kötődve két funkcionálisan eltérő mTOR komplexet képezhet: mTORC1 és mTORC2 [79].



4.ábra Az mTOR fehérje sémás ábrája

Az mTORC1 multiprotein komplex tartalmazza az mTOR fehérjét, az mTOR regulációhoz kapcsolódó fehérjét (Raptor), a DEP domént tartalmazó mTOR-interakciós fehérjét (Deptor), a 40 kDa prolinban gazdag AKT szubsztrátot (PRAS40), és az mLST8/GbL (mammalian lethal SEC13 protein 8 /G-protein b-alegységszerű) fehérjét [80, 81]. A RAPTOR szabályozza az mTORC1 funkciót a szubsztrátok toborzásához. A PRAS40 gátló hatással van az mTORC1-re, amit felfüggeszthet az Akt útvonalon történő foszforiláció (5. ábra) [82].

Az mTORC2 komplex az mTOR fehérjéből, a Deptor fehérjéből, a Rictor fehérjéből (rapamycin-insensitive companion of mTOR), az mLST8 fehérjéből és az mSin 1 fehérjéből (mammalian stress-activated protein kinase-interacting protein 1) áll [78, 79]. A Rictor és az mSin1 fehérjék stabilizálják egymást, így az mTORC komplex szerkezeti alapját képezik. Az mTORC2-ben sem a rapamicin, sem a tápanyagszint nem befolyásolja a Rictor és az mTOR közötti kölcsönhatást, ellentétben az mTORC1-gyel [82]. Nemrégiben azonosították, hogy a Tti1 (Tel2 interacting protein 1) és a Tel2 (Telomere maintenance 2) fehérjék horgonyozzák az mLST8, a Raptor és a Rictor fehérjéket az mTOR fehérjéhez (5.ábra) [83].



5.ábra Az mTORC1 és mTORC2 komplex fehérjéinek sematikus ábrája, a jelentősebb jelátviteli útvonalak jelzésével.

Az mTOR fehérje kulcsfontosságú csomópont a jelátviteli útvonalakban. Az onnan induló, és oda befutó útvonalak komponensei gyakran érintettek a különböző humán betegségek kialakulásában. Az mTOR által irányított bejövő szignálútvonalak között van az inzulinszerű és más típusú növekedési faktorok, citokinek, stressz és aminosavak által generált folyamatok [78]. Az mTORC2 képes foszforilálni többek között az Akt onkogén kinázt, az mTOR egy „upstream” jelátviteli molekuláját, hogy elősegítse annak teljes aktiválását. Több, mint 100 Akt szubsztrátból számoltak be, az egyik fontos szubsztrát a hamartin/tuberin fehérje komplex [82, 84]. Kimutatták, hogy a TSC1–TSC2 komplex fizikailag kapcsolódhat az mTORC2-hez, (az mTORC1-hez azonban nem), és a hamartin-tuberin fehérjekomplex pozitívan regulálja az mTORC2-t [85]. Azonban az mTORC1-et is befolyásolja az Akt jelátviteli útvonala. A hamartin (TSC1), a tuberin (TSC2) és a TBC1D7 (TBC1 domain family member 7) fehérjekomplexet képez, amely közvetve gátolja az mTORC1 jelátvitelt a Rheb-en keresztül. A növekedési faktorok a foszfoinozítid-3-kinázt (PI3K) stimulálják, hogy a phosphoinositide-dependens kináz 1 (PDK1) működésén keresztül az Akt aktiválódjon. Az Akt működése szupprimálja a sclerosis tuberosa fehérjekomplex TSC2 alegységét, ami diszinhibitoros hatással bír az mTORC1 jelátvitelre [86]. Az aktiválás révén az mTORC1 számos anabolikus folyamat szabályozásával elősegíti a sejtnövekedést és az anyagcserét, beleértve a fehérje-, lipid- és nukleotidszintézist [78]. Az mTORC1 szerepet játszik továbbá az autofágiában és az immunválaszban is. Az mTORC2 szabályozza a sejtek túlélését és a citoszkeleton (aktin és cyrokeratin) szerveződését [78]. Így a TSC1 és TSC2 gének mutációja

esetén, az általuk kódolt hamartin és tuberin fehérjék károsodásával, az mTORC1 és mTORC2 összes funkciójának kóros működését láthatjuk, mely jellegzetes klinikai tünetek kialakulásához vezet.

A TSC génekben bekövetkezett mutációk következtében az mTOR útvonal gátlása megszűnik, és kontrollálatlan sejtosztódás indul meg, hamartómák képződését eredményezve. A hamartómák lényegében bármely szervben kialakulhatnak, de jellemzően a szívben, az agyban, a vesékben, a bőrben és a tüdőben észleljük. A különböző szervek érintettségének spektruma széles skálán mozog, még a családon belül azonos mutációt hordozók körében is. A szervek érintettségének jellegzetes megjelenési ideje van. A rhabdomyomák (benignus tumorok a myocardiumban) 90%-ban már intrauterin felfedezhetők, spontán gyermekkori regressziójuk várható [87]. A központi idegrendszer érintettségét jelző epilepszia (infantilis spazmus) még csecsemő korban kezdődik. Koponya MRI vizsgálat igazolhatja kortikális tuberek, subependymalis nodulusok (SEN), óriássejtes astrocytoma (SEGA) és migrációs zavar jelenlétét a központi idegrendszerben. A TSC-asszociált neuropszichiátriai tünetcsoport (kognitív és viselkedési anomáliák, autizmus) jelei kisgyermekkorban mutatkoznak meg először [88]. A jellegzetes bőrtünetek (angiofibroma, köröm fibroma, fokális hipopigmentáció, stb.) megjelenési ideje szintén erre az időszakra tehető, ahogyan a vese angiomyolipomái (AML) is ekkor keletkeznek az első cisztákkal együtt. A lymphangioliomyomatosis, a tüdő destruktív, cisztózus elváltozása a simaizom sejtek diffúz pulmonalis infiltrációjával jellemzően a 4. évtizedben jelentkezik. 80%-ban nőket érint, a nemi hormonok szerepe feltételezett a hátterében [89].

A TSC2 gén mutációit hordozó betegeknél a veseérintettség súlyosabb lehet, a renális tünetek korábban jelentkeznek. A betegség lefolyása jellemzően progresszívebb, gyakran gyorsan romló vesefunkcióval és súlyos magas vérnyomás kialakulásával [90]. Az AML-ek és ciszták megjelenése is korábban következik be, számuk, méretbeli növekedésük is nagyobb fokú a TSC1 mutációt hordozó betegekhez képest [91]. Az AML-ek változó arányban zsírsejtekből, kóros érkepletekből és éretlen simaizomsejtekből állnak [92]. Megfigyelték, hogy az AML-ek gyakoribbak és nagyobbak a nőknél, mint a férfiaknál, beleértve a pubertás előtti lányokat is. Ennek oka lehet a női hormonok szerepe, valamint az AML-ek ösztrogénre és progeszteronra való fokozott érzékenysége [92]. Éppen ezért, azoknál a sclerosis tuberosas nőbetegeknél, akiknél veseérintettség jelentkezik, különös figyelmet kell fordítani a terhesség alatti képalkotó vizsgálatokra. A terhesség alatti hormonális változások miatt ugrásszerűen növekvő AML-ek miatt fokozódik a vérzés kockázata, a keringő vértérfogat fiziológias expansiója pedig tovább növelheti a vérzés mértékét, akár életveszélyes állapotot idézve elő

[76]. Az AML méretének növekedése általánosságban is a vérzés fokozott kockázatával jár, különösen a 3 cm-nél nagyobb elváltozások esetén. Az angiomyolipomát ellátó erekben aneurizmák alakulhatnak ki, amelyek megrepedhetnek és életveszélyes vérzést okozhatnak. Egyes tanulmányok arra utalnak, hogy az AML-ek mérete nem mutat egyértelmű összefüggést az életkorral [93]. Ugyanakkor megfigyelték, hogy a 3 éves kor előtt kialakult elváltozások gyermekkorban fokozatos növekedést mutatnak, majd felnőttkorban a növekedés üteme csökkenhet és az elváltozások stabilizálódhatnak [94]. A sclerosis tuberosával élő betegek körülbelül 14-32%-ánál jelennek meg veseciszták, ezen belül körülbelül 40%-uknál már gyermekkorban észlelhetők a cisztózus elváltozások [76, 95]. Két fő megnyilvánulása lehetséges: klasszikus esetben leggyakrabban egyetlen vagy többszörös kicsi, elszórt lézió jelenik meg, amely tünetet nem okoz és szövettanilag egységes. A vese mérete kezdetben normális. A TSC kevésbé gyakori cisztás megnyilvánulása, amikor autoszomális domináns policisztás vesebetegséggel társul. Ezt nevezzük TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómának (TSC2-PKD1-FGDS).

2.6 TSC2-PKD1 FOLYAMATOS GÉNDELÉCIÓS SZINDRÓMA

Autoszomális domináns policisztás vesebetegség a sclerosis tuberosával élő betegek kevesebb, mint 2%-ában fordul elő [96]. Az ADPKD esetek több, mint 2/3-ának kialakulásáért felelős PKD1 (policisztin 1) a 16p13.3 kromoszóma pozícióban található, közvetlenül a TSC2 mellett. A TSC2-t és a PKD1-et is érintő nagy deléciók okozzák a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómát [97, 98]. A klinikai megjelenés ebben az esetben komolyabb renális tünetekkel jár: a ciszták száma és mérete rohamosan növekszik, így a vesék mérete hamar meghaladja az életkori átlagot. A ciszták átmérője már korai életkorban több centiméteres lesz, ami a működő veseparenchyma csökkenéséhez vezet. Következésképpen korai hipertónia megjelenéséhez, majd a vesefunkció fokozott romlásához vezethet. A végstádiumú vesebetegség az élet 2.-3. évtizedében alakul ki.

TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma esetén a hamartin-tuberin komplex, az mTOR és a policisztin 1 kölcsönhatása is zavart szenved. Normál körülmények között a policisztin 1 citoplazmatikus farkának proximális vége kölcsönhatásba lép a tuberinnel és az mTOR-al. Fehérjekomplexet alkotnak, amelynek révén az mTOR gátló hatás alá kerül. Az mTOR gátlása a G1-sejtciklus leállításához és apoptózishoz vezet. A PKD1 gén mutációja esetén az mTOR útvonal kórosan aktiválódik a cisztát bélelő hámsejtekben [99]. Tuberinhányos

sejtvonalakon végzett vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy a TSC-mutációk esetében ugyanez az útvonal sérül. Ennek hátterében az áll, hogy a tuberin fehérje szállítja a policisztin 1-et a plazmamembránba. Azonban a tuberinhoányos sejtekben a policisztin 1 intracelluláris továbbítása megszűnik [100]. Emellett a policisztin 1 szabályozza a tuberin foszforilációját [101]. Ez magyarázza a mindkét gént érintő delécio súlyosabb hatását. Érdekes tény, hogy az mTOR útvonal élettani körülmények között inaktívvá válik a felnőtt hámsejtekben. Esetleges vesekárosodás (iszkémiás sérülés, ureterelzáródás) esetén azonban mTOR aktivitásra van szükség a celluláris „repair” program részeként. Ilyen esetekben az mTOR reaktiváció alapvető szerepet játszik a proliferatív illetve hipertrófiás szöveti folyamatokban. Az eredmény a vese fibrózisa lehet, a tubuláris rendszer ektáziájával, amint az krónikus veseelégtelenségben is látható [102]. Érdekes tehát, hogy az mTOR útvonal reaktiválásával más szerkezeti, szövettani változás (fibrózis) alakul ki, mint az inaktiváció hiányában (hamartomák és ciszták képződése).

2.7 GENETIKAI VIZSGÁLÓMÓDSZEREK

A genetikai vizsgálómódszerek az elmúlt évtizedekben óriási fejlődésen mentek keresztül, melyek a gyorsabb és hatékonyabb diagnosztikát teszik lehetővé. A mai modern molekuláris genetikai vizsgálómódszerek szinte mindegyike a polimeráz láncreakción (PCR) alapuló eljárás. Ennek során ismétlődő ciklusokban, mesterségesen sokszorozzák, amplifikálják a vizsgálandó DNS szakaszt [103]. A vizsgált DNS szakaszt speciális oligonukleotid primerek segítségével jelölik ki, melyek egyszálú komplementerként határolják a DNS polimeráz enzim által sokszorozandó régiót. A DNS szintézis 5'-3' irányban a két primer között zajlik, minden ciklusban duplázva a DNS mennyiségét, így a ciklusokkal hatványozottan emelkedik annak mennyisége [104]. A standard PCR mellett a multiplex PCR több génszakasz egyidejű vizsgálatát teszi lehetővé, a vizsgált szakaszok elektroforézissel kerülnek szétválasztásra [105]. A kvantitatív, valós idejű PCR során a képződő DNS-t fluoreszcens festék, vagy fluoreszcensen jelölt próba beépítésével jelölik, majd az észlelt fluoreszcencia intenzitás segítségével határozzák meg a mennyiségét. Analizáló program szükséges azon ciklusszám meghatározásához, amikor az észlelt fluoreszcencia intenzitás meghaladja a háttér fluoreszcenciát, ezt áttörési pontnak nevezzük. Ismert DNS koncentrációjú standardok használatával, a görbék alapján a vizsgált génszakasz mennyisége, vagyis a kópiaszáma is meghatározható. Mindezen technikák továbbfejlesztett változata a digitális PCR, mely külön

partíciókra osztott, kisebb DNS szakaszok, párhuzamosan történő amplifikációját jelenti, így lényegesen gyorsabb vizsgálatot tesz lehetővé [103, 106].

Sanger szekvenálás során a DNS polimeráz szelektíven beépíti a fluoreszcensen jelölt lánc-terminációs didezoxinukleotidokat (a didezoxinukleotidok a 3' végükön hidroxil csoport helyett hidrogént tartalmaznak, így lesz láncterminaló hatásuk). Az így képződő fragmenseket a méretük alapján kapilláris elektroforézis segítségével különítik el. Ezzel a módszerrel a pontos nukleotid sorrendet határozhatjuk meg [107]. Időigényes vizsgálat, újabban leginkább a már ismert eltérések validálására, célzott vizsgálatára alkalmazzák, valamint a páciens eredményének ismeretében a potenciális hordozó hozzátartozók célzott vizsgálatára.

MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) vizsgálat során a génen belüli nagyobb deléciók, duplikációk, vagyis kópiaszám változások mutathatók ki, akár heterozigóta formában is. A vizsgálati metodika során nem a vizsgálandó DNS szakasz amplifikációja történik, hanem az adott szakaszhoz hibridizált speciális próbák sokszorozása, fluoreszcensen jelölt primerek alkalmazásával [108]. A vizsgálat kezdetén a denaturált DNS-hez a vizsgálandó genomi régióval kapcsolódni képes oligonukleotid próba keveréket adnak hozzá, amit egy éjszakán át hagynak hibridizálni. A próba keverék eltérő hosszúságú oligonukleotidokból áll, ami az úgynevezett töltelék szekvenciák eltérő méretéből adódik. A templáthoz több oligonukleotid hibridizál, melyek megfelelő illeszkedés esetén (amennyiben az adott DNS szakaszon nincs olyan eltérés, ami a hibridizációt lehetetlenné tenné) ligáz enzim hozzáadásával összekapcsolódnak. Amennyiben a próbák nem immobilizálódnak a templáthoz a minta DNS strukturális eltérése miatt, elmarad a ligáció, vagyis a PCR sem tud megvalósulni. Ez teszi specifikussá a vizsgálatot. A ligáció létrejötté esetén az így kialakult hosszú próba kerül amplifikációra, a mindkét véghez kapcsolt univerzális fluoreszcens primer segítségével. Az így keletkező, különböző nukleotidhosszúságú termékek elektroforézissel történő szétválasztása után mennyiségi analízis következik, aminek alapján a vizsgált DNS szakasz kópiaszámára következtethetünk. A referenciához viszonyítva alacsonyabb kópiaszám delécióra, míg a kópiaszám többlet duplikációra enged következtetni [108]. Az utóbbi években kialakított digitális MLPA módszer segítségével a korábbi, mintegy 50 genomi lókuszt helyett nagyságrendekkel több genomi régió vizsgálata valósítható meg párhuzamosan [109].

Az újgenerációs szekvenálás (Next generation sequencing – NGS) forradalmasította a molekuláris genetikai diagnosztikát. Az eljárás során sok minta egyidejű vizsgálata valósítható meg, ami a hagyományos szekvenáláshoz képest teljesen új metodikával történik [109]. Magasszintű informatikai és robottechnikai rendszer szükséges kivitelezéséhez, ugyanakkor nagyfokban csökkent a vizsgálatra fordítandó idő és a vizsgálatok fajlagos költsége [110]. A

vizsgálni kívánt DNS apró, 100-200 bázispár méretű darabokra történő fragmentálása után a fragmentumokat barcode (index szekvencia) hozzáadásával jelölik. A duplaszálú DNS szakaszok végét kijavítják, adapter DNS-t ligálnak hozzájuk, majd egyszálúsítják. A legáltalánosabb módszer szerint híd-amplifikációt végeznek: egy szekvenáló lemezen az adapter szakaszokkal komplementer oligonukleotid primer DNS szakaszokat horgonyoznak, ahová a vizsgálandó DNS fragmentumok kötődnek az adapterek segítségével, majd végbemegy az amplifikáció. A szintézist követő denaturáció után az egyszálú DNS elhajlik és egy másik horgonyzott primerrel hibridizál, amivel újra végbemegy az amplifikáció. Az átírt, majd denaturált szálak egymással, vagy egy primerrel hibridizálnak, az így keletkező kettősszálú DNS szakaszok kerülnek szekvenálásra. Ennek során újabb speciális primert hibridizálnak a templáthoz, majd 4-féle különböző, fluoreszcensen jelölt, reverzibilis terminációt eredményező nukleotidot adnak hozzá. A beépült nukleotid által adott fluoreszcens jel CCD kamerával (a fényt elektromos jellé alakító eszköz) detektálható. A szekvenálás után a DNS szakaszokat átfedő részszekvenciák alapján nagyobb kontigokká, összefüggő egységekké kapcsolnak. Ezután az észlelthez hasonló szekvenciákat keresnek egy referencia adatbázisban. A folyamat végén génfelismerés és annotáció történik. Az észlelt variánsok értékelése során az adott populációban észlelt gyakoriság a mérvadó. Az adatbázisokban található populációs frekvenciaadatok alapján a patogenitás valószínűsége határozható meg, szerencsés esetben korábban leírt patogén, kóroki mutáció esetén a diagnózis kimondható. NGS panelek használata egyes kórképek differenciáldiagnózisa során a vizsgálandó gének összességének panelje, több gén egyidejű vizsgálata történik a folyamat gyorsítása céljából [109].

Teljes exom szekvenálás (whole exome sequencing – WES) a genom fehérjéket kódoló régióinak, vagyis az exonok összességének szekvenálását jelentő vizsgálómódszer. Kevesebb költséggel bíró, célzott vizsgálati lehetőség a klinikai exom szekvenálás (clinical exome sequencing - CES), mely a vizsgálandó gén, illetve néhány gén kódoló régióinak vizsgálatát teszi lehetővé. Az NGS panelekhez hasonlóan kerülnek kiválasztásra a vizsgálandó gének, a betegségcsoportoknak megfelelően.

2.8 CÉLKITŰZÉS

Jelen doktori értekezés célja a gyermekkori policisztás vesebetegségek részletes klinikai tüneteinek bemutatása, a kórképek hátterében álló genetikai eltérések ismertetése. Ezekből

genotípus-fenotípus összefüggések megállapítása, ami a differenciáldiagnosztikai támpontok alapját képezheti a mindennapi klinikai gyermeknefrológiai gyakorlatban. Ugyanakkor cél a nem típusos megjelenésű esetekben szükséges komplex gondolkodásmód, a kiterjesztett vizsgálati rendszerek felkutatása. A genetikai vizsgálómódszerek részletes leírásával az elsődleges, célzott vizsgálati sorrend, stratégia kialakítása, illetve annak megjelölése, hogy az adott kórképben mikor szükséges ettől eltérve kiterjesztett vizsgálatot végezni.

Az autoszomális recesszív policisztás vesebetegség hátterében a PKHD1 gén kóroki szerepe elsődleges, ennek ellenére a fenotípusosan ARPKD-nek megfelelő betegek 13-20%-ánál nem azonosítható mutáció a gén szekvenálásával. Munkám során arra a kérdésre kerestem a választ, hogy ilyen esetekben nem detektálható pozícióban lévő mutációk, esetleg kópiaszám változások állnak a háttérben, és a genetikai vizsgálómódszerek ilyen irányú kiterjesztése szükséges, vagy „second locus” mutációk, fenokópiák kutatása a célszerű következő lépés? Ezáltal az autoszomális recesszív policisztás vesebetegséggel született gyermekek kivizsgálása során jól alkalmazható algoritmus kialakítása volt a további cél. Kerestem továbbá azokat a fenotípusos jegyeket, melyek kimondottan erősítik az ARPKD diagnózist.

Az értekezés másik középpontja a sclerosis tuberosával, ezen belül TSC2-PKD1-folyamatos gendelációs szindrómával élő betegek vizsgálata. Mind a sclerosis tuberosa, mind az autoszomális domináns policisztás vesebetegség diagnózisa kimondható a klinikai tünetek, hivatalos kritériumrendszerek, illetve családfa elemzés alapján. A két gént érintő nagy deléción gyanúja a klinikum alapján szintén felmerülhet, de erre teljes megerősítést csak a genetikai vizsgálat adhat. A humángenetikai törvény értelmében nem végezhető humángenetikai vizsgálat 14 éves kor alatt, hacsak nincs terápiás vagy gondozást érintő stratégiai következménye. Azonban TSC2-PKD1 folyamatos gendelációs szindróma esetén jogosan merül fel annak igénye, hogy a gyermekek és családjuk tájékoztatást kaphassanak az akár 3 évtizeddel korábban kialakuló végstádiumú veseelégtelenséggel járó betegségről. Tekintettel arra, hogy gyógyító eljárás nem áll rendelkezésre a kórképben (megoldást csak a vesetranszplantáció jelent) arra a kérdésre kerestem a választ, mikor javasolt mégis genetikai vizsgálatot indítványozni? Az elsődleges vizsgálat módjának meghatározása, illetve a vizsgált beteganyagban észlelték alapján a célzott genetikai vizsgálat kiterjesztésének indikációja is igen fontos kérdés. Az értekezésben céltom erre is választ adni.

Összefoglalva az alábbi kérdések megválaszolása a cél:

1. Melyek azok a fenotípusos jegyek, amik ARPKD diagnózist nagyban valószínűsítik?

2. A fenotípusosan ARPKD-vel diagnosztizált gyermekeknél mutációt nem azonosító PKHD1 gén szekvenálást követően a gén kópiaszám változásainak vizsgálata, vagy fenokópiák keresése a javasolható következő eljárás?
3. Mikor és milyen genetikai vizsgálómódszer elsődleges alkalmazása javasolt TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma gyanúja esetén?
4. Mikor javasolt a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma esetén végzett genetikai vizsgálat kiterjesztése?

3 BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

A kutatás a Helsinkai Deklaráció elveit és gyakorlatát betartva történt.

A szülők és a gyermekek életkoruknak, mentális státuszuknak megfelelő, részletes tájékoztatásban részesültek, ezt követően a szülők írásos hozzájárulást adtak a vizsgálatban való részvételhez, és a genetikai vizsgálathoz.

A vizsgált családok között rokoni kapcsolat nem áll fenn.

3.1 ARPKD BETEGEK VIZSGÁLATA

36 gyermek került beválasztásra ARPKD feltételezett diagnózisával az alábbi kritériumok alapján:

1. Hiperreflektív vesék mikrocisztákkal
2. A renális ciszták átmérője nem haladja meg a 2 cm-t
3. Legalább az egyik oldali vese kranio-kaudális átmérője meghaladja az 50 percentilis értéket
4. A családfa analízis alapján autoszomális receszív öröklésmenet valószínűsíthető
5. Nem észlelhető urogenitális malformáció
6. Nincs olyan jellegzetes extrarenális tünet az elsődleges diagnózis idején, ami egyéb ciliopátiára jellemző

A vesék kranio-kaudális átmérőjének percentilis meghatározása a <https://radiology-universe.org/calculator/pediatric-kidney-sizes/calculator.php> online kalkulátor segítségével történt.

A betegeket 4 nagy magyarországi gyermeknefrologiai centrum beteganyagából választottuk. Összesen 37 gyermek került beválasztásra, közöttük egy testvérpár adatait az elemzések során egyként kezeltük. A nemek aránya 21 fiú és 16 leány, az átlagéletkoruk 7,88 év.

A betegektől nyert vérmintából kivont DNS mintákat a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetének Klinikai Genetikai laboratóriumában vizsgálták, a PKHD1 gén Sanger szekvenálása történt (lásd: Genetikai vizsgálómódszerek alfejezet). Amennyiben ennek eredménye mindkét allélon patogén mutációt igazolt, a szülők vérmintájából célzott vizsgálat történt a transz-heterozigótaság igazolására. Amennyiben a Sanger szekvenálással nem sikerült biallélikus mutációt igazolni, a PKHD1 gén MLPA vizsgálatával szűrték a kópiaszám változásokat. Ennek negatív eredménye esetén a betegek fenotípusos jegyeit újraértékeltük, és a felmerülő egyéb ciliopátiáknak megfelelő második gén (NPHP1, HNF1B, TMEM67, PKD1, PKD2, TSC2) vizsgálata történt (lásd: Genetikai vizsgálómódszerek alfejezet). Ezen vizsgálatok részben a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet Klinikai Genetikai laboratóriumában, részben az MTA-SE Lendület Nephrogenetikai laboratóriumában, részben a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermekegészségügyi Központ Genetikai Diagnosztika Laboratóriumában történtek. A genetikai vizsgálatok elvégzésében én magam nem vettem részt, azok menetéről tájékozódtam, valamint a további genetikai vizsgálatok tervezésében, az adatok összegzésében közreműködtem. A kapott genetikai eredményeket az érintett betegek és hozzátartozók tájékoztatását követően, a jelen tudományos vizsgálatához rendelkezésemre bocsátották, melyeket a betegekről saját magam gyűjtött klinikai adatokkal összevettem. A vese túlélés betegcsoporton belüli összehasonlító vizsgálatára a Kaplan-Meier becslést alkalmaztunk.

3.2 TSC2-PKD1 FOLYAMATOS GÉNDELECIÓS SZINDRÓMÁVAL ÉLŐ BETEGEK VIZSGÁLATA

4 beteg került beválasztásra az alábbi kritériumok alapján:

1. A nemzetközi ajánlás szerinti kritériumtünetek (3. táblázat) alapján a sclerosis tuberosa klinikai diagnózisa kimondható
2. A vesékben a ciszták dominálnak, AML-ek száma alacsony

3. A ciszták méretbeli vagy számbeli növekedése az első 3 életévben a klasszikus sclerosis tuberosához viszonyítva fokozott (>10 ciszta legalább 1 cm átmérővel 3 éves kor előtt)
4. A veseciszták mérete a követés során meghaladja a 2 cm-es méretet
5. A vesék kranio-kaudális átmérője meghaladja az 50 percentilis értéket vagy az életkorhoz viszonyított +2SD-t

3. táblázat A sclerosis tuberosa major és minor kritériumtünetei (A Nemzetközi Tuberous Sclerosis Complex Konszenzus Munkacsoport irányelve alapján)

Major kritériumok	Minor kritériumok
Hypopigmentált foltok (>3, legalább 5 mm átmérőjű)	„Confetti” bőrléziók
Angiofibromák (>3) vagy fibrotikus plakkok	Fogzománc gödrök (>3)
Köröm fibromák (>2)	Intraoralis fibromák (>2)
Shagreen folt	Depigmentált foltok a retinán
Multiplex retina hamartomák	Multiplex veseciszták
Többszörös corticalis tuberek/radiális migrációs vonalak	Nem renalis hamartomák
Subependymalis nodulusok (>2)	Szklerotikus csontléziók
Subependymalis óriássejtes astrocytoma	
Rhabdomyoma	
Lymphangiomyomatosis	
Angiomyolipomák (>2)	

A sclerosis tuberosa diagnózisának felállításához 2 major kritériumtünet, vagy 1 major+2 minor kritériumtünet hordozása szükséges.

A betegek genetikai vizsgálata a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézetének laboratóriumában zajlott. Két esetben a TSC1 és TSC2 gének szekvenálásával indult, majd patogén mutációt nem detektálva, továbbá a progrediáló klinikai tüneteket is figyelembe véve MLPA vizsgálat történt első körben ugyanezen gének, majd a PKD1 gént is érintő nagy delécio vizsgálatára. Két esetben már célzottan, a TSC2 és PKD1 gének MLPA vizsgálata történt. Egy beteg esetében láttuk indokoltnak az MLPA vizsgálat további kiterjesztését, és az NTHL1 gén vizsgálata is megtörtént. A szülők célzott vizsgálata két beteg esetében valósult meg. A genetikai vizsgálatok elvégzésében én magam nem vettem részt, de azok menetéről tájékoztam. Az érintett betegek és szüleik tájékoztatását követően rendelkezésemre bocsátották a kapott eredményeket jelen tudományos vizsgálathoz, melyeket a betegekről saját magam gyűjtött klinikai adatokkal összevettem.

Mind az ARPKD, mind a TSC2-PKD-FGDS betegpopulációban a betegek nefrológiai követése, gondozása során az alábbi rendszeres klinikai vizsgálatok történtek:

- A képalkotó vizsgálatok: hasi ultrahang illetve hasi MRI, utóbbi szükség szerint rövid általános anesztéziában.
- Vérnyomásmérés a gyermekek testméretéhez igazított felkaros vérnyomásmérő mandzsettával. (A hipertóniát jelentő 95 percentilis fölötti vérnyomásértékeket a Magyar Hypertonia Társaság egészségügyi szakemberek, gyermekgyógyászok részére alkotott online kalkulátorának segítségével határoztam meg: <https://www.merckmanuals.com/medical-calculators/BloodPressurePercentBoys.htm> és <https://www.merckmanuals.com/medical-calculators/BloodPressurePercentGirls.htm>).
- Laboratóriumi vérvizsgálat többek között a vesefunkciós értékek monitorozására. A kapott szérum kreatinin eredményből Schwartz szerint kalkulált GFR megállapítás történt. Két beteg esetén rendszeres everolimus gyógyszerszint vizsgálat.
- Vizelet vizsgálat proteinuria szűrésére, illetve potenciális húgyúti fertőzés esetén alkalomszerűen.

3.3 GENETIKAI VIZSGÁLÓ MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA

3.3.1 ARPKD betegek genetikai vizsgálatai

3.3.1.1 PKHD1 gén szekvenálása, MLPA vizsgálata

A genomiális DNS-t a véralvadásgátolt perifériás vérmintából standardizált módszerekkel nyerték. Az exonokat és a kapcsolódó introni szekvenciákat a Lasekót és munkatársai által leírt [111] primerek felhasználásával amplifikálták, és a Sanger szekvenálás ABI Prism 310 Genetic Analyzer segítségével (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) történt. A biallélikus pontmutációval nem rendelkező betegeknél ezt követően a mintát kópiaszám változások irányába vizsgálták MLPA-val, a gyártó (MRC-Holland, Amsterdam, the Netherlands) utasításai szerint. Röviden összefoglalva: a DNS denaturáció és hybridizáció egy éjszakán át történt, a P341 és P342 próbakeverékkel. A hybridizált próbákat ligálták és amplifikálták 5'-jelölt fluoreszcens primerekkel. ABI Prism 310 Genetic Analyzerrel történő elválasztást követően a kópiaszámok kiszámítása a normalizált csúcsintenzitás alapján történt a mintán belüli és a minták közti normalizációt követve. Szülői mintákat célzottan, az azonosított mutációkra szűrték a szegregáció és a transz-heterozigótaság megerősítésére.

3.3.1.2 Second locus mutációk vizsgálata

Újraértékeltek azon betegek klinikai tüneteit, akiknél biallélikus PKHD1 mutációt nem sikerült igazolni, és a továbbiakban célzottan kerestük egyéb ciliopátia génekben a lehetséges mutációt. Az NPHP1 és HNF1B kópiaszám változásokat a fent jelzethez hasonló rendszerben QMPFS (Quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments), vagyis a fluoreszcensen jelölt rövid DNS szakaszok amplifikációját magában foglaló technikával vizsgálták [112, 113]. Hasonlóan ehhez, a TSC2-PKD1 nagy delécio kimutatása is így történt, ennek megfelelő primerekkel. A PKD1 delécio validálása MLPA technikával történt, a SALSA MLPA P352 PKD1-PKD2 próbakeverék felhasználásával, a gyártó utasításainak betartása mellett (MRC-Holland, Amsterdam, the Netherlands).

A second locus pontmutációk vizsgálata HNF1B és TMEM67 gének esetén Sanger szekvenálással történt. A PKD1-2 gének vizsgálatának megtervezéséhez az Ion AmpliSeq Designer version 4.2.1 (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA) rendszert alkalmazták. A minta dúsítását az Ion AmpliSeq Library Kit (Thermo Fischer Scientific) segítségével végezték. A mintákat vonalkóddal látták el és IonTorrent 316 chip (Thermo Fischer Scientific) rendszeren szekvenáltatták. A célszekvencia több, mint 95%-a legalább 50-szeresen fedett volt. A feltételezett kóroki genetikai variánsokat Sanger szekvenálással validálták.

3.3.1.3 Klinikai exom szekvenálás

A klinikai exom szekvenálást a korábban leírtak szerint végezték [114]. A célszekvencia több mint 95%-a legalább 20-szorosan fedett volt. Az olvasási keret a humán NCBI37/hg19 referencia genom alapján lett feltérképezve. A DNS-illesztést és szekvencia variánsanalízist a NextGene segítségével végezték (Szoftververzió 2.4.2 SoftGenetics, State College, PA). A cisztás vesebetegséggel összefüggésbe hozható ismert/feltételezett kóroki gének kódoló és splicing régiójának mutációira célozva szűrték ki a vizsgált betegre vonatkozó adatokat.

3.3.2 A TSC2-PKD1 folyamatos gendelációs szindróma genetikai vizsgálata

Az első és második betegnél a TSC1 és TSC2 gének szakaszait multiplex PCR (Illumina targeted DNA custom panel) segítségével amplifikálták. A reakció során elkészített könyvtárat Illumina MiSeq rendszeren futtatták. Az adatelemzés során a fehérjekódoló exonokat és az

exon-intron határokat értékelték. Mivel nem észleltek kóroki mutációt, Sanger szekvenálással történő megerősítés nem készült. A célzott MLPA vizsgálat a TSC2 és PKD1 géneket lefedő SALSA MLPA próbakeverékkel történt. Az NTHL1 gén irányában kiterjesztett vizsgálat menetéről nem kaptam részletes tájékoztatást.

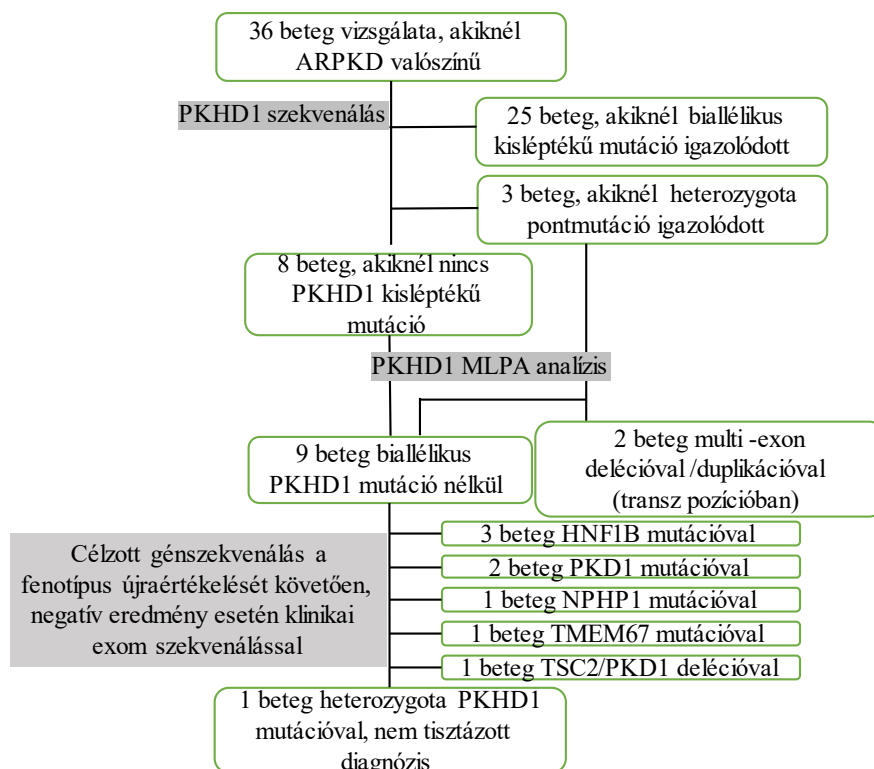
4 EREDMÉNYEK

4.1 ARPKD BETEGEK VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI

A 36 ARPKD betegnél végzett PKHD1 gén Sanger szekvenálás eredménye 27 betegnél (75%) igazolt biallélikus patogén mutációt (4. táblázat). Közülük 25 beteg mindkét allélon pontmutációt hordoz (P1-P25), további két beteg heterozigóta pontmutációt, másik allélon pedig egyikük 33-35 exont érintő duplikációt (P26), illetve a másik beteg (P27) nagy kiterjedésű deléciót (1-55 exon) hordoz. Egy beteg (P28) heterozigóta kereltolást eredményező (frameshift) mutációt hordoz, nála a másik allélon kóroki eltérést azonosítani nem tudtunk. 8 beteg esetén a PKHD1 génben sem szekvenálással, sem MLPA vizsgálattal nem tudtunk mutációt azonosítani (5. táblázat). Biallélikus kópiaszám változást nem detektáltunk (5. ábra). Gyakori mutáció a vizsgálati populációban a p.Thr36Met és a p.Ser2639*, előbbi 15/54 (28%), utóbbi 8/54 (15%) az észlelt mutációs allélok arányában. Összesen 7 új mutációt azonosítottunk, köztük a 33-35 exon duplikációt és a nagy kiterjedésű, 1-55 exont érintő deléciót, 3 trunkáns fehérjét okozó mutációt (c.5_8delCTGC, p.Ala3Glyfs*2; c.5088delTG, p.Gly1696fs*1; c.12036delA, p.Gly4013Alafs*24), és két misszensz mutációt (c.4328G>A, p.Cys1443Tyr és c.10621A > T, p.Asn3541Tyr). Utóbbi kettőt patogénnek minősítettük, mivel az emlősökben konzervált szakaszon lévő aminosavakat érintő mutációk.

Mind a 8, PKHD1 negatív betegnél „second locus” mutációt találtunk a fenotípus újraértékelését követően (5. táblázat, 5. ábra). Két betegnél (P29, P30) a vesékben lévő ciszták megjelenése, száma alapján 2-4 éves életkorban már inkább ADPKD-nak megfelelő fenotípusra gondoltunk, mindkettőjükénél de novo PKD1 mutáció igazolódott. Egy betegnél (P31) a policisztás vesék mellett megjelenő jellegzetes tünetek, majd a további célzott vizsgálatokkal igazolt klinikum sclerosis tuberosa gyanúját vetették fel. Nála TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma igazolódott. Három beteg esetében (P32-P34) a teljes HNF1B gént érintő, de novo deléciót észleltünk, jellemzően a kezdetben enyhén nagyobb, hiperechogén veseméretük a későbbi életkorukban nem haladta meg az átlagot. Egy betegnél (P35) NPHP1

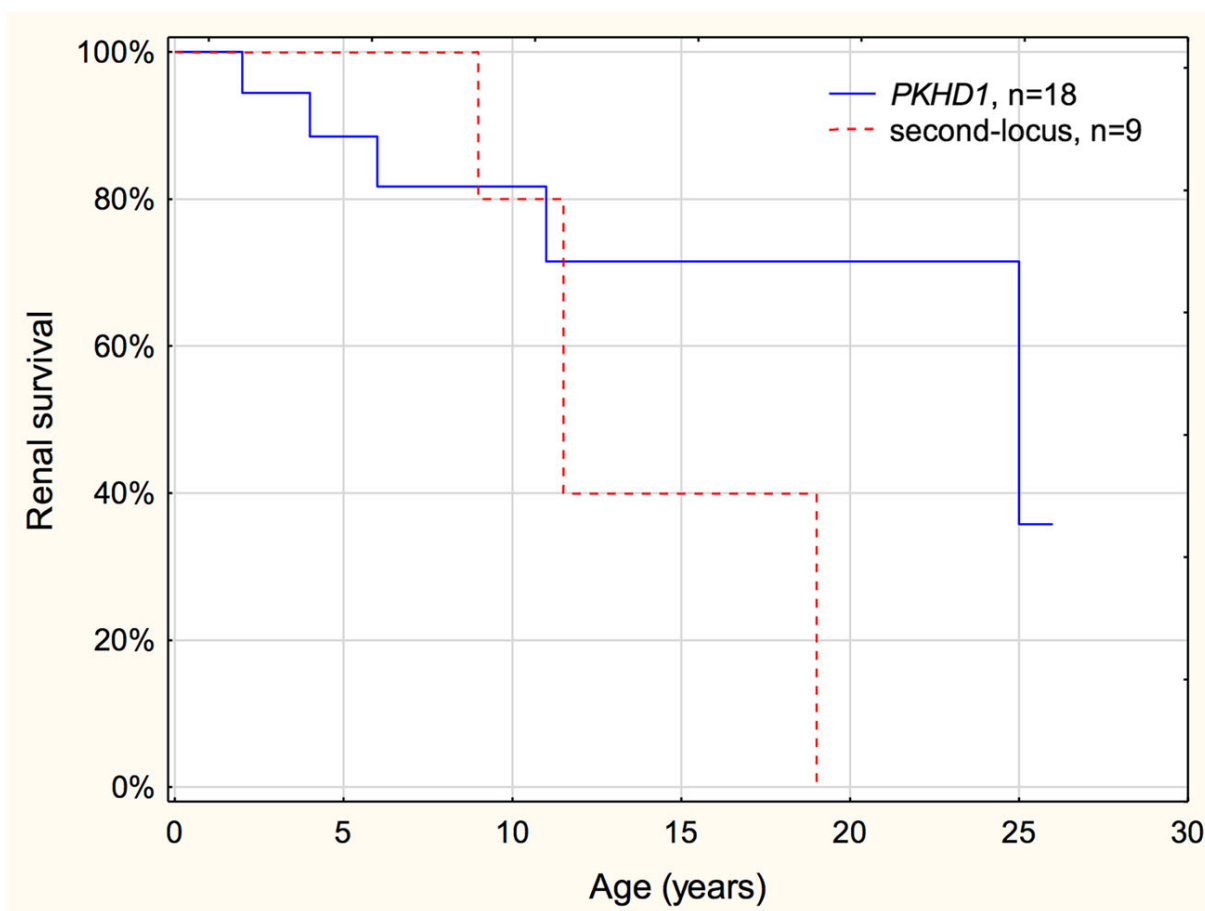
deléció igazolódott, 11 éves életkorban végstádiumú veseelégtelen állapotban diagnosztizálva a kórképet. Egy testvérpárnál (P36, P37), akiknél hiperechogén vesék és fokozott májfibrózis jelei domináltak, neurológiai tünetek nélkül, homozigóta misszensz TMEM67 mutáció, a gyakori p.Cys615Arg aminosavcsere igazolódott [51]. A homozigóta kereteltolást okozó (frameshift) mutációt hordozó betegnél (P28) nem azonosítottunk „second locus” mutációt (6. ábra).



6.ábra A mutációk vizsgálatának algoritmus a klinikai jegyek alapján valószínűsített autoszomális recesszív policisztás vesebeteg gyermekek körében

A 27 biallélikus PKHD1 mutációt hordozó gyermekből 19-nél (70%) lépett fel légzéstámogatási igény a perinatális időszakban, és közülük 9 gyermek (33%) perinatálisan (3 hónapos kor előtt) exitált (4. táblázat). Összehasonlításképp a „second locus” mutációt hordozó betegek közül csupán egy (P36) igényelt perinatális légzéstámogatást, ő is újszülöttkori infekció miatt (5. táblázat). A PKHD1 mutációt hordozó kohorszban a légzéstámogatást igénylő, perinatális időszakot túlélő 10 gyermek közül 9-nél még 1 éves kor előtt hipertónia alakult ki (4. táblázat). Ezzel szemben a „second locus” mutációt hordozók között csupán egy gyermeknél (P35) észleltünk hipertóniát, mely a végstádiumú veseelégtelenséggel párhuzamosan lépett fel (5. táblázat). A diagnózis idején észlelt +4 SD fölötti vese méret (kranio-kaudális átmérő) specifikusnak mondható ARPKD-ra, mivel a 27 biallélikus PKHD1

mutációt hordozó beteg 70%-ánál (19 gyermek) észlelhető volt (4. táblázat), míg a „second locus” mutációt hordozó betegek közül senkinél sem. Mindezeket figyelembe véve a P28 gyermeknél, akinél csak egyik allélon sikerült mutációt detektálni, enyhe fenotípusú ARPKD a valószínűsíthető diagnózis: kora hipertóniája mellett kifejezetten megnagyobbodott veséket és májfibrózist észleltünk nála (4. táblázat). Vese túlélés szempontjából nem volt szignifikáns különbség a PKHD1 mutációt hordozó, perinatális időszakot túlélő betegek és a „second locus” mutációt hordozó betegek között (7. ábra).



7.ábra A renális túlélés összehasonlítása a PKHD1 mutációt és a „second locus” mutációt hordozó gyermekek körében. Nem észleltünk különbséget a renális túlélésben a PKHD1 illetve a „second locus” mutációt hordozó betegek összehasonlításával ($p = 0.51$). (Az ábrát Dr. Balogh Eszter társszerzőm készítette a közösen feldolgozott adatok alapján, ami az értekezés alapjául szolgáló közleményünkben szerepel.)

4.táblázat A PKHD1 mutációt hordozó betegek klinikai adatainak összesítése

Cs.	Pt	PKHD1 mutáció	Exon	Aminosav csere	Utolsó kontroll/ exit (életkor)	Resp. igény	Életkor ARPKD észlelésekor
F1	P1	c.107C>T hom (m,p)	3	p.Thr36Met	KTx:4 év	-	újszülöttkor
F2	P2	c.6992T>A het (p)	43	p.Ile2331Lys	8 év	+	újszülöttkor
		c.7916C>A het (m)	51	p.Ser2639*			
F3	P3	c.8935C>T het (m)	58	p.Arg2979*	† 6 nap	+	IU
		c.7916C>A het (p)	51	p.Ser2639*			
F4	P4	c.107C>T het(p)	3	p.Thr36Met	8 év	+	1 hó
		c.6992T>A het (m)	43	p.Ile2331Lys			
F5	P5	c.10658T>C het (p)	65	p.Ile3553Thr	11 év	-	4 év
		c.7122delT het (m)	46	p.Phe2374Leufs*41			
F6	P6	c.107C>T het (p)	3	p.Thr36Met	† 3 hó	+	újszülöttkor
		c.474G>A het (m)	7	p.Trp158*			
F7	P7	c.7916C>A hom (m,p)	51	p.Ser2639*	† 7 hét ^b	+	IU
F8	P8	c.107C>T hom (m,p)	3	p.Thr36Met	† 6 hét	+	újszülöttkor
F9	P9	c.107C>T het	3	p.Thr36Met	† 3 nap	+	újszülöttkor
		c.7916C>A het	51	p.Ser2639*			
F10	P10	c.5513A>G het (p)	34	p.Tyr1838Cys	KTx:4 év	+	újszülöttkor
		c.3463C>T het (m)	30	p.Gln1155*			
F11	P11	c.3747T>G het (p)	32	p.Cys1249Trp	12 év	+	IU (32. gh)
		c.5513A>G het (m)	34	p.Tyr1838Cys			
F12	P12	c.7916C>A het (m)	51	p.Ser2639*	KTx:25 év	-	7 év
		c.10658T>C het (p)	65	p.Ile3553Thr			
F13	P13	c.547C>T het (p)	8	p.Gln183*	14 év	-	IU (30. gh)
		c.4870C>T het (m)	32	p.Arg1624Trp			
F14	P14	c.5_8delCTGC het (p)	2	p.Ala3Glyfs*2	15 év	-	5 hó
		c.12036delA het (m)	71	p.Gly4013Alafs*25			
F15	P15	c.107C>T het (p)	3	p.Thr36Met	6 év	+	újszülöttkor
		c.8552T>C het (m)	55	p.Ile2851Thr			
F16	P16	c.664A>G het (m)	9	p.Ile222Val	8 év	-	csecsemőkor
		c.5513A>G het (p)	34	p.Tyr1838Cys			
F17	P17	c.107C>T het (p)	3	p.Thr36Met	5 év	-	3 hó
		c.664A>G het (m)	9	p.Ile222Val			
F18	P18	c.2341C>T het (p)	23	p.Arg781*	17 év	-	16 év
		c.10621A>T het (m)	65	p.Asn3541Tyr			
F19	P19	c.7916C>A hom (m,p)	51	p.Ser2639*	† 3 hét	+	IU
F20	P20	c.4328G>A het (m)	32	p.Cys1443Tyr	4,5 év	+	újszülöttkor
		c.8870T>C het (p)	58	p.Ile2957Thr			
F21	P21	c.107C>T het	3	p.Thr36Met	† 1 nap	+	IU (32. gh)
		c.5088delTG het	32	p.Gly1696fs*1			
F22	P22	c.107C>T hom (m,p)	3	p.Thr36Met	KTx:1.8 év	+	IU (33. gh)
F23	P23	c.107C>T hom (m,p)	3	p.Thr36Met	† 6 hét	+	újszülöttkor
F24	P24	c.107C>T het (m)	3	p.Thr36Met	3 év	+	5 hó
		c.6992T>A het (p)	43	p.Ile2331Lys			
F25	P25	c.2167C>T het	22	p.Arg723Cys	6 év	+	újszülöttkor
		c.8870T>C het	58	p.Ile2957Thr			
F26	P26	c.9370C>T het (m)	59	p.His3124Tyr	KTx:11 év	+	3 hó
		c.(5236+1_5237-1)(5751+1_5752-1)dup, het	33-35	abnormis tk.			
F27	P27	c.1-43098_8643-31del het (p)	1-55	nincs tk.	† 10 hét ^c	+	IU
		c.10174C>T het (m)	61	p.Gln3392*			
F28	P28	c.8114delG het (m)	5	p.Gly2705Valfs*11	26 év	-	4 év

4.táblázat folytatás A PKHD1 mutációt hordozó betegek klinikai adatainak összesítése

Cs.	Pt	Vesehossz ARPKD dg idején [SDS, jobb-bal] (életkor)	Legnagyobb veseciszta átmérője (életkor)	Legutóbbi vesehossz ^a [SDS, jobb-bal] (életkor)	Vesefunkció (életkor)	HT (életkor)	Májérintettség (életkor)
F1	P1	+6.55;+8.67 (6 hó)	10 mm (6 hó)	NA	ESRD (2 év)	+ (6 hó)	HM, EME (0.5 év)
F2	P2	+8.45;+8.45 (1 nap)	6 mm (1 nap)	NA	CKD II. (8 év)	+ (1 hó)	CHS, HM, EME, F (2 év)
F3	P3	+8.71;+8.71 (5 nap)	18 mm (5 nap)	NA	VE (6 nap)	-	CHS, MC, HM (4 nap)
F4	P4	+2.4;+3.07 (2 hó)	<10 mm (2 hó)	+4.08;+5.83 (6 év)	N (8 év)	+ (1 nap)	HM, AS (2 hó)
F5	P5	+3.1;+3.1 (4 év)	2 mm (4 év)	+2.59;+1.05 (9 év)	N (11 év)	-	MC (4 év)
F6	P6	+12.82;+12.82 (4 nap)	3 mm (4 nap)	+8.96;+8.96 (3 hó)	ESRD (3 hó)	+ (1 nap)	HM (4 nap)
F7	P7	+2.42;+2.42 (4 nap)	NA	NA	VE (4 hét)	-	HM (4 nap)
F8	P8	+14.42;+14.42 (4 nap)	5 mm (1 hó)	NA	VE (6 hét)	+ (1 nap)	-
F9	P9	+6.47;+5.09 (1 nap)	4 mm (1 nap)	NA	NA	-	HM, EME, AS (1 nap)
F10	P10	+12.36;+12.36 (1 nap)	4 mm (3 nap)	+7.88;+7.88 (3 év)	ESRD (4 év)	+ (1 hét)	LTx:4 év
F11	P11	+9;+9 (1 hó)	6 mm (1 hó)	+8.77;+6.59 (12 év)	CKD IV. (12 év)	+ (3 hó)	EME (1 hó)
F12	P12	+4.85;+4.85 (10 év)	5 mm (10 év)	+4.46;+4.46 (18.5 év)	ESRD (25 év)	+ (10 év)	LTx:25 év
F13	P13	+0.05;+1.8 (3 hó)	6 mm (8 év)	+5.15;+7.5 (14 év)	N (14 év)	-	-
F14	P14	+2.59;+3.8 (5 hó)	1 mm (9 év)	+8.28;+10.08 (15 év)	CKD II. (15 év)	+ (3 év)	-
F15	P15	+9.69;+9.69 (5 hó)	9 mm (5 hó)	+19.16;+19.16 (6 év)	CKD III. (6 év)	+ (1 nap)	MC (1 nap), AS, HM (3 év)
F16	P16	+5.24;+5.24 (3 év)	4 mm (3 év)	+3.83;3.83 (8 év)	N (8 év)	-	-
F17	P17	+3.8;+3.8 (4 hó)	10 mm (4 hó)	+6.21;+6.21 (5 év)	N (5 év)	-	-
F18	P18	+1.59;+3.64 (16 év)	11 mm (16 év)	NA	CKD II. (17 év)	-	AS (16 év)
F19	P19	+12.36;+12.36 (1 nap)	8 mm (1 nap)	+16.79;+16.79 (1 hét)	VE (1 hét)	+ (1 nap)	-
F20	P20	+4.01;+4.01 (4 hó)	3 mm (4 hó)	+10.31;9.1(4.5 év)	CKD II. (4.5 év)	+ (1nap)	AS (4 hó), F (10 hó), HSM (1 év)
F21	P21	+18.87;+18.87 (1 nap)	4 mm (1 nap)	NA	NA	NA	-
F22	P22	+4.79;+4.79 (8 nap)	1 mm (8 nap)	+21.95;+21.95 (1 év)	ESRD (1 év)	+ (1 nap)	F (1 nap), EME (3 hó)
F23	P23	+15.09;+15.09 (2 nap)	4 mm (2 nap)	NA	VE (6 hét)	+ (1 nap)	-
F24	P24	+0.2;+0.2 (6 hó)	4 mm (6 hó)	-1.75;-1.75 (3 év)	CKD II (1.5 év)	-	-
F25	P25	+5.92;+5.92 (5 hó)	8 mm (5 hó)	+10.6;+10.6 (6 év)	ESRD (6 év)	+ (1 év)	HSM (5 hó), MC (3 év)
F26	P26	+9.24;+4.48 (3 hó)	10 mm (3 hó)	NA	ESRD (11 év)	+ (3 hó)	MC, HM (3 hó)
F27	P27	+4.1;+4.1 (1 nap)	NA	NA	VE (10 hét)	+ (1 nap)	-
F28	P28	+7.26;+3.26 (4 év)	10 mm (4 év)	+3.73;+3.73 (26 év)	CKD II. (26 év)	+ (17 év)	F, HM, EME (4 év)

a/végstádiumú veseelégtelenség kialakulása előtt; b/29. gesztációs hétre született, c/31.

gesztációs hétre született; AS: abnormis struktúra, CHS: cholestasis, CKD: chronic kidney

disease (krónikus vesebetegség), Cs: család, dg: diagnózis, EME: emelkedett májenzimek, ESRD: end-stage renal disease (végstádiumú veseelégtelenség), F: fibrózis, gh: gesztációs hét, het: heterozigóta, HM: hepatomegalia, hom: homozigóta, HSM: hepatosplenomegalia, HT: hipertónia, IU: intrauterin; KTx: vesetranszplantáció, LTx: májtranszplantáció, m: maternális, MC: májcisza, N: normál, NA: nincs adat, p: paternalis, P/Pt: páciens, Resp. igény: respirációs (lélegeztetési) igény, SDS: standard deviation score, tk: transzkriptum, VE: veseelégtelenség

5.táblázat A „second locus” mutációt hordozó betegek klinikai adatainak összesítése

Cs.	Pt	„Second locus” mutáció	Exon	Aminosav csere	Utolsó kontroll (életkor)	Resp. igény	Életkor vesebet. dg idején
F29	P29	PKD1 c.12310_12313delGTTA het (de novo)	5	p.Val4104Phefs*93	4 év	-	IU
F30	P30	PKD1 c.920delT het (de novo)	45	p.Phe307Serfs*27	3.5 év	-	IU (32.gh)
F31	P31	PKD1/TSC2 16:g.(?_2088232)_(2134081_?)del het. (de novo)	TSC2: 41-42, PKD1: 1-46	-	6.5 év	-	6 hét
F32	P32	HNF1B(?_-1)_(?1_?)del het (de novo)	1-9	-	9 év	-	IU (16.gh)
F33	P33	HNF1B(?_-1)_(?1_?)del het (de novo)	1-9	-	6 év	-	újszülöttkor
F34	P34	HNF1B(?_-1)_(?1_?)del het (de novo)	1-9	-	11 év	-	IU
F35	P35	NPHP1 (?_-1)_(?1_?)del het (m)	1-20	-	KTx: 12.5 év	-	11.5 év
		NPHP1 c.(1810+1_1811-1)_(?1_?)del (p)	18-20-	-			
F36	P36	TMEM67 c.1843T>C hom	18	p.Cys615Arg	KTx: 9 év	+ ^b	IU
F36	P37				20 év	-	3 hó

5.táblázat folytatás A „second locus” mutációt hordozó betegek klinikai adatainak összesítése

Cs.	Pt	Vesehossz ARPKD dg idején [SDS, jobb-bal] (életkor)	Legnagyobb vesecisza átmérője (életkor)	Legutóbbi vesehossz ^a [SDS, jobb-bal] (életkor)	Vesefunkció (életkor)	HT (életkor)	Májérintettség (életkor)
F29	P29	+3.26;+3.26 (7 hó)	3 mm (7 hó)	+2.17;+3.23 (4 év)	N (4 év)	-	-
F30	P30	+2.19;+0.24 (1 nap)	15 mm (1 nap)	+6.93;+0.95 (3.5 év)	N (3.5 év)	-	-
F31	P31	+0.44;+0.54 (3.5 év)	10 mm (2 hó)	+0.42;+0.42 (6.5 év)	N (6.5 év)	-	-
F32	P32	+1.32;+1.32 (2 hó)	8 mm (2 hó)	+2.82;+2.82 (9 év)	N (9 év)	-	-
F33	P33	+1.62;+1.62 (1 nap)	9 mm (5 év)	+0.15;+0.5 (6 év)	N (6 év)	-	-
F34	P34	-0.1;+0.23 (3 hó)	3 mm (3 hó)	+0.53;+0.53 (10 év)	CKD II. (10 év)	-	EME (7 év)
F35	P35	+0.42;+0.42 (11.5 év)	10 mm (11.5 év)	NA	ESRD (11.5 év)	+ (11.5 év)	EME (11.5 év)
F36	P36	+1.29;+1.8 (1 hó)	9 mm (1 hó)	-4.74;-4.74 (9 év)	ESRD (9 év)	-	-
F36	P37	+1.51;+1.51 (3 hó)	2 mm (9 év)	-2.88;-2.78 (18 év)	ESRD (19 év)	-	EME (11 év), F (20 év)

a/végstádiumú veseelégtelenség kialakulása előtt; b/GBS perinatális szepszise zajlott dg: diagnózis, CKD: chronic kidney disease (krónikus vesebetegség), Cs: család, EME: emelkedett májenzimek, ESRD: end-stage renal disease (végstádiumú veseelégtelenség), F: fibrózis, gh: gesztációs hét, het: heterozigóta, hom: homozigóta, HT: hipertónia, IU: intrauterin, KTx: vese transzplantáció, m: maternalis, N: normál, NA: nincs adat, p: paternalis, P/Pt: páciens, Resp. igény: respirációs (lélegeztetési) igény, SDS: standard deviation score, vesebet.: vesebetegség

4.2 TSC2-PKD1 FOLYAMATOS GÉNDELÉCIÓS SZINDRÓMÁVAL ÉLŐ BETEGEK VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI

Az eredmények, majd a következtetések ismertetéséhez elengedhetetlen a 4 eset részletes leírása.

Első beteg: Jelenleg 15 éves fiúgyermek. Születését követően kardiális eltérés nem volt észlelhető. Soha nem zajlott epilepsziás roham, a rutin EEG-vizsgálatok mindig negatívnak bizonyultak, a koponya MRI vizsgálat subcorticalis tubereket írt le. A posztnatális szűrő hasi ultrahang vizsgálat mindkét vesében kis méretű cisztákat jelzett, ami felvetette policisztás vesebetegség diagnózisát. 3 éves korában már több, mint tíz cisztát találtak mindkét vesében, a legnagyobb 13 mm átmérőjű volt (6. táblázat). A vesék kranio-kaudális hossza ekkor +2SD felett volt az életkori átlaghoz képest. A rendszeresen végzett hasi ultrahang, illetve MRI vizsgálat során a vesékben mérsékelten növekvő cisztákat írtak le, de a vesék mérete, térfogata kifejezetten meghaladta az életkori normákat. A legutóbbi MR vizsgálat során (1.A kép) számos, apró, 1-3 mm-es angiomyolipoma gyanús echogén gócot észleltek mind a veseparenchymában, mind a májban (7-8 mm átmérőjű), emellett novumként a májban 20 mm átmérőjű ciszta igazolódott. Vesefunkciója normális, a kalkulált GFR 90 ml/min/1.73 m² fölötti. 15 évesen magas vérnyomása alakult ki, ami amlodipin kezelés mellett egyensúlyban tartható. Ötéves korában kialakult bőrelváltozásai (hipopigmentált foltok, angiofibroma és Shagreen-folt) hívták fel a figyelmet szklerózis tuberosa lehetőségére (11. táblázat). Szemészeti vizsgálat során a jobb szemében egy kisméretű retina hamartomát írtak le. A TSC gének szekvenálásával végzett genetikai elemzés nem azonosított patogén mutációkat. Az MLPA vizsgálat azonban megerősítette a TSC2 gén 17–42. exonjainak nagymértékű delécióját és a PKD1 gén teljes delécióját heterozigóta formában (8. ábra, 10. táblázat). Szüleinek genetikai vizsgálata nem igazolta ezt a deléciót, tehát úgy tűnik, hogy de novo kialakult mutációról van szó.

6.táblázat Az első TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat)

Életkor a vizsgálat idején	Vese hosszanti átmérője jobb/bal (mm)	Legnagyobb ciszta átmérője a jobb/bal vesében (mm)	Angiomyolipoma mérete (mm)
3 év	70/70	13/13	0
5 év	80/80	NA	0
10 év	100/100	25/20	0
15 év	138/136	39/35	3

NA: nincs adat

Második beteg: Jelenleg 5 éves leány. Már az intrauterin ultrahang vizsgálat multiplex kardiális rhabdomyoma jelenlétét igazolta, mely felvetette sclerosis tuberosa lehetőségét (11. táblázat). A neurológiai tünetei három hónapos korában kezdődtek infantilis spazmussal, ekkor készült EEG vizsgálatral hypsarrhythmia igazolódott. Jelenleg összetett parciális epilepsziás rohamai vannak, amelyeket orális vigabatrinnal és lamotriginnel tartanak egyensúlyban. Koponya MRI vizsgálat subependymalis nodulusokat (SEN) és corticalis tubereket írt le, azonban SEGA-t nem észleltek. Posztnatális hasi ultrahangvizsgálat során mindkét vesében számos, 3-14 mm átmérőjű cisztát fedeztek fel. A szoros utámkövetés a ciszták gyors növekedését jelezte, amint az a 4. táblázatban is látható. Két éves korában angiomyolipoma gyanús elváltozások jelentek meg mindkét vesében, melyek jelenlétét hasi MRI vizsgálatral is megerősítettek. A főként neurológiai indikációval kezdett everolimusz terápia kétéves korban indult, melynek hatására a ciszták növekedési üteme lelassult, az AML-ek száma és mérete változatlan maradt (7. táblázat). A legutóbbi hasi ultrahang vizsgálat azonban meglepő módon növekvő cisztákat írt le, a legnagyobb ciszta 40 mm-nél nagyobb átmérőjű volt, és egy új, 3 mm-es ciszta alakult ki a májban (1.B kép). Vesefunkciója és vérnyomása mindeddig a normál tartományban van. Jellegzetes bőrtünetként egy kis hipopigmentált folt jelent meg a homlokán. A TSC1 és TSC2 gének szekvenálása nem igazolt genetikai rendellenességet. MLPA vizsgálat azonban a TSC2 gén 14-42. exonjait, és a PKD1 gén 11-46. exonjait érintő heterozigóta deléciót igazolt (8. ábra, 10. táblázat). A szülők genetikai vizsgálata során mutációt nem azonosítottak, így a kislánynál megfigyelt deléció de novo alakult ki.

7.táblázat A második TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat)

Életkor a vizsgálat idején	Vese hosszanti átmérője jobb/bal (mm)	Legnagyobb ciszta átmérője a jobb/bal vesében (mm)	Angiomyolipoma mérete (mm)
2 hét	NA	12/14	0
4 hó	72/77	18/32	0
9 hó	74/74	23/34	0
23 hó	86/91	15/26	0
27 hó	95/96	18,5/26,5	2-3
34 hó	99/103	18/27	2-3
4 év	105/113	18/41	3-6
5 év	113/124	29/25	3-6

Kezdetben a ciszták száma és mérete rapidan növekedett. Az everolimusz terápia indítása után (vastag vonal) a növekedés üteme lassult. NA: nincs adat

Harmadik beteg: Jelenleg 13 éves fiú. Posztnatális kardiológiai ultrahang vizsgálat megerősítette az intrauterin már észlelt eltéréseket: a szívben nagy rhabdomyoma a septumban és mindkét kamra elülső falában, mely kiáramlási akadályt nem okoz (11. táblázat). A rhabdomyomák 4 éves korára spontán visszafejlődtek. Az első epilepsziás rohama csecsemőkorban jelentkezett. A koponya MRI a sclerosis tuberosa kiterjedt megnyilvánulásait tárta fel mindkét agyféltekében: SEN-eket, 8 mm-es SEGA-t a bal oldalon a foramen Monroi területén, és számtalan corticalis tubert. Vigabatrint, majd valproátot kapott, de nem vált rohammentessé, ezért 2,5 éves kora óta neurológiai indikációval everolimusz terápiaiban részesül. Ennek hatására rohammentes lett, néhány év elteltével az antiepileptikumok is elhagyhatóvá váltak. A SEGA növekedése miatt kialakuló hydrocephalus háromszori (9, 10 és 11 éves korában) idegsebészeti beavatkozást tett szükségessé. Sajnos közepes fokban értelmi fogyatékos lett. Neonatális hasi ultrahang vizsgálata 7 mm átmérőjű cisztát írt le a jobb vesében. Hat hónapos korában már mindkét vesében 1,5-3,5 cm-es ciszták mutatkoztak, amelyek számukban és méretükben folyamatos növekedést mutattak (8. táblázat). A vesék kranio-kaudális hossza is meghaladta az életkori átlagot. A legutóbbi ultrahang- és MRI-vizsgálat a vese hosszanti átmérőjének életkori átlaghoz viszonyított percentilis értékét az átlag fölött +7 SD-vel és +8 SD-vel mérte. (1.C kép) Extrarenális cisztákat is leírtak a hasnyálmirigyében és a máj S4 szegmensében. Eddigi gondozása során sem MRI-vel, sem ultrahanggal nem lehetett igazolni angiomyolipomák jelenlétét. Hipertóniája 18 hónapos korában alakult ki, amelyre ACE-inhibitor kezelést kezdtünk. A veseműködése mindeddig normál tartományban maradt. A

célzott genetikai (MLPA) vizsgálat igazolta a TSC2 gén 22-42. exonjának és a PKD1 gén minden exonját érintő heterozigóta delécióját (8. ábra, 10. táblázat). A gyermek édesapjánál és édesanyjánál fennálló teljes tünetmentesség alapján, de novo mutációnak tartjuk, de a szülők genetikai vizsgálata nem valósult meg.

8.táblázat A harmadik TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat)

Életkor a vizsgálat idején	Vese hosszanti átmérője jobb/bal (mm)	Legnagyobb ciszta átmérője a jobb/bal vesében (mm)	Angiomyolipoma mérete (mm)
1 hó	NA	7/0	0
6 hó	NA	15/35	0
4 év	112/113	33/52	0
6 év	NA	40/50	0
9 év	NA	38/37	0
11 év	152/154	39/47	0
12 év	150/160	50/52	0

A ciszták kifejezett növekedési üteme lelassult az everolimusz kezelés indítása után (vastag vonal). AML képződése eddig nem volt igazolható. NA: nincs adat

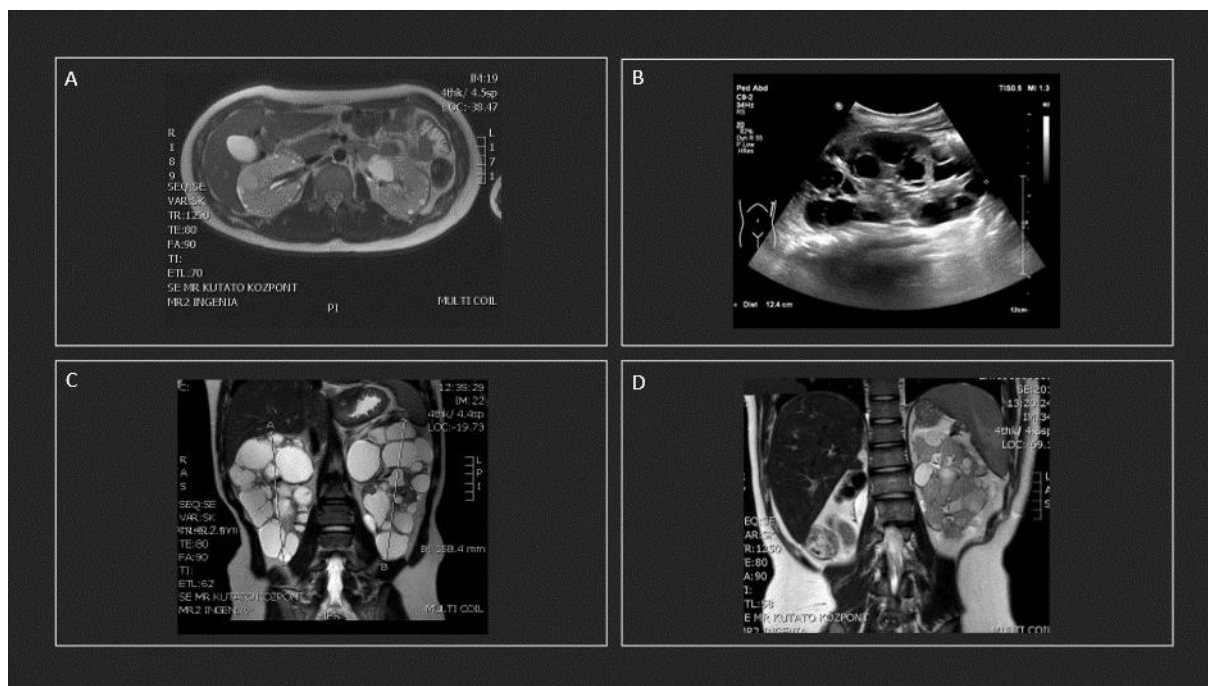
Negyedik beteg: A jelenleg 17 éves fiú a 38. gesztációs hétre született, komplikált terhességből, prenatálisan diagnosztizált magzati kardiális rhabdomyomával (11. táblázat). A rhabdomyoma aorta inszufficienciát és mindkét kamrában a kiáramlási traktus obstrukcióját okozta, melyet újszülött korban inoperábilisnek vélelmeztek. Ám 8 évesen korrekciós műtéten esett át aortasztenosis miatt, később pedig műbillentyűt kapott. Epileptiform roszullétei 5 hónapos korában kezdődtek, az EEG-vizsgálat West-szindrómát igazolt terápiára refrakter epilepsziával. Autizmussal él, közepes fokban értelmi fogyatékos. Már újszülött korban mindkét oldalon megnagyobbodott, policisztás vesék ábrázolódtak a hasi ultrahang vizsgálat során, melyek rapid méretbeli növekedést mutattak már az első életévekben (9. táblázat). 8 évesen a jobb vese alsó pólusában egy 35 mm átmérőjű, zegzugos, vastag falú, echogén képlet volt látható, amit eleinte rupturált cisztának vélelmeztek. A kontroll képalkotó vizsgálatok azonban az elváltozás jelentős méretbeli növekedését jelezték, a hasi MRI vizsgálat alapján a vesesejtes rák kialakulása volt a legvalószínűbb. A tumor a vena cava inferiort is komprimálta. Egy héttel később jobb oldali nephrectomia történt. A szövettani vizsgálat nefroblasztomát (Wilms tumort) igazolt, alapvetően blasztémás komponenssel, melyben minimális, 1% alatti epiteliális vagy mezenchimális komponens is jelen volt. Ezenkívül egy kis angiomyolipoma maradványát

is leírták az eltávolított policisztás vesében. A sebészeti beavatkozást követő kemoterápia és sugárterápia után remisszióban volt. Veseműködése a normál tartományban maradt, de 14 éves korban mérsékelt proteinuria (1 g/nap) jelentkezett. Sajnos egy évvel később az eGFR 64 ml/perc/1,73 m²-re csökkent, a proteinuria fokozódott (2,5 g/nap) és magas vérnyomás alakult ki, amelyre ACE-gátló kezelést kapott. 16 éves korában a kontroll hasi MRI számos ciszta mellett egy korábban angiomyolipomának vélt, de nem specifikus megjelenést és növekedést mutató elváltozást jelzett (1.D kép). A szoros követés lassan növekvő vesesejtes karcinómát és a májban lévő metasztázist igazolta. A további terápia folyamatban van. Most, 17 évesen a CKD3b stádiumban van (GFR-je 30 ml/perc/1,73 m²). Bőrén testszerte hipopigmentált foltok láthatóak (11. táblázat). A célzott MLPA vizsgálat meglepően nagy kiterjedésű heterozigóta deléciót igazolt, mely érinti a teljes TSC2 gént és a teljes PKD1 gént, továbbá az NTHL1 gén 1. exonját (8. ábra, 10. táblázat). A szülők tünetmentessége alapján az észlelt eltérés de novo alakulhatott ki.

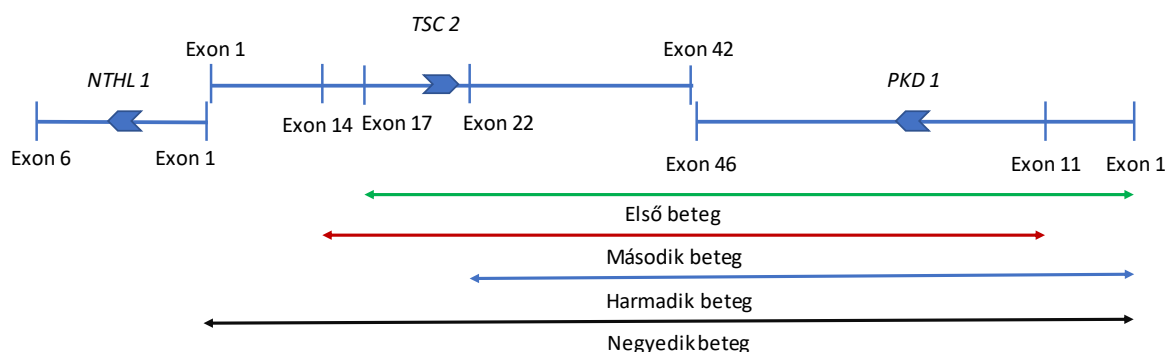
9.táblázat A negyedik TSC2-PKD1-FGDS beteg képalkotó vizsgálati eredménye a gondozás során (ultrahang és MRI vizsgálat)

Életkor a vizsgálat idején	Vese hosszanti átmérője jobb/bal (mm)	Legnagyobb ciszta átmérője a jobb/bal vesében (mm)	Angiomyolipoma mérete (mm)
5 hó	120/120	NA	0
2 év	130/130	48/15	0
4 év	130/130	20/20	0
6 év	140/140	41/30	0
8 év	140/140	42/33	0
9 év	-/145	-/28	0
11 év	-/148	-/31	0
13 év	-/170	-/35	0
15 év	-/170	-/47	2-3
16 év	-/175	-/50	2-3
17 év	-/180	-/50	2-3

NA: nincs adat



1.kép A 4 TSC2-PKD1-FGDS beteg hasi ultrahang és hasi MRI vizsgálatainak egy-egy képe. A: első beteg: 15 éves korban készült hasi MRI vizsgálat, szagittális metszet, számos 1-35 mm nagyságú ciszta ábrázolódik mindkét vesében B: második beteg: az extrém mértékben megnagyobbodott policisztás bal vese ultrahang képe (kranio-kaudális átmérő: 124 mm) a gyermek 5 éves korában C: harmadik beteg: koronális metszet a 13 éves korban készült hasi MRI vizsgálatból, mindkét vesében számtalan nagyméretű cisztával D: negyedik beteg: a jobb oldali nefrektómia után 8 évvel készült hasi MRI vizsgálat, a vesesejtes karcinóma a bal vese középső harmadában látható



8. ábra Sematikus ábra a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával élő betegeknél érintett génszakaszokról. Az NTHL1, TSC2 és PKD1 közvetlenül egymás mellett helyezkednek el. A TSC2-t és a PKD1-et érintő nagy deléciók mindkét gén utolsó exonjait érintheti. Az NTHL1 és a TSC2 együttes deléciói ritkák, mindkét gén első exonjait érinthetik.

Az első beteg esetében észlelt nagy deléció: zöld vonal; a második betegnél azonosított kiterjedt deléció: piros vonal; a harmadik betegnél detektált kópiaszám változás: kék vonal; a negyedik betegnél észlelt óriás deléció: fekete vonal

10.táblázat A 4 TSC2-PKD1-FGDS beteg genetikai vizsgálatának összesítése a deletált exonok pontos megjelölésével

	Mutáció	Deletált exon
1. beteg	<i>TSC2-PKD1</i> del het (de novo)	<i>TSC2</i> : 17-42; <i>PKD1</i> : 1-46
2. beteg	<i>TSC2-PKD1</i> del het (de novo)	<i>TSC2</i> : 14-42; <i>PKD1</i> : 11-46
3. beteg	<i>TSC2-PKD1</i> del het (de novo)	<i>TSC2</i> : 22-42; <i>PKD1</i> : 1-46
4. beteg	<i>NTHL1-TSC2-PKD1</i> del het (de novo)	<i>NTHL1</i> : 1; <i>TSC2</i> : 1-42; <i>PKD1</i> : 1-46

11.táblázat A vizsgált betegek tünetei a sclerosis tuberosa diagnosztikai kritériumrendszerének tükrében

Diagnosztikus kritériumok	1. beteg	2. beteg	3. beteg	4. beteg
Major kritériumok				
Hypopigmentált foltok (≥ 3 ; leglább 5 mm átmérőjű)	+	+	+	+
Angiofibromák (≥ 3) vagy fibrotikus plakkok	+	-	-	+
Köröm fibromák (≥ 2)	-	-	-	-
Shagreen folt	+	-	+	-
Többszörös retina hamartoma	+	-	-	-
Multiplex corticalis tuberek és/vagy radiális migrációs vonalak	+	+	+	+
Subependymalis nodulusok (≥ 2)	-	+	+	+
Subependymalis óriássejtes astrocytoma	-	-	+	-
Rhabdomyoma	-	+	+	+
Lymphangioliomyomatosis	-	-	-	-
Angiomyolipoma (≥ 2)	+	+	-	+
Minor kritériumok				
“Confetti” bőrléziók	+	+	-	-
Fogzománc gödrök (≥ 3)	-	-	-	-
Intraorális fibromák (≥ 2)	-	-	-	-
Depigmentált foltok a retinán	-	+	-	+
Multiplex veseciszták	+	+	+	+
Nem renalis hamartomák	+	-	-	-
Szklerotikus csontléziók	-	-	-	-

5 MEGBESZÉLÉS

5.1 ARPKD BETEGEK MEGBESZÉLÉSE

A vizsgált betegpopulációban tapasztalt 78%-os mutációs találati hatékonyság összecseng az irodalomban található adatokkal [28, 115-121]. Ahogyan a PKHD1 kópiaszám változásainak alacsony prevalenciája is egyeztethető egyéb kohorszban észlelt adatokkal [28, 115-117, 119, 122]. Mindössze két ilyen mutációt tudtunk igazolni, egy 3 exon méretű szakaszt érintő duplikációt és egy nagy kiterjedésű deléciót, melyek pontmutációkhoz társultak. Biallélikus kópiaszám változást nem detektáltunk. Ennek alapján a kópiaszám változások keresése MLPA vizsgálattal akkor javasolható, ha hagyományos szekvenálási módszerekkel heterozigóta pontmutáció azonosítható az egyik allélon, és a fenotípusos jegyek alapján ARPKD a legvalószínűbb diagnózis. Ha egyik allélon sem találunk pontmutációt, akkor a fenotípusos jegyek újraértékelése, fenokópiák keresése a következő racionális lépés.

A PKHD1 génben nem érintett betegek mindegyikénél sikerült megtalálni a valódi kóroki mutációt, igazolva, hogy a betegek 22%-ánál téves volt a kezdeti klinikai tünetek alapján felállított ARPKD diagnózis. Ez hangsúlyozza, hogy a klinikai tünetek, a fenotípus rendszeres újraértékelése a sarokköve a célzott genetikai vizsgálatoknak. Jelen vizsgálat során is ez vezetett a second gének vizsgálati stratégiájában. A P28 betegnél még a klinikai exom szekvenálás során sem sikerült „second locus” mutációt igazolni, ami lefedte a PMM2 promoter régióját is. Az ő esete is hangsúlyozza tehát, hogy sokszor még a szekvenálás és az MLPA kombinációja sem vezet eredményre, ami felveti intron mutációnak vagy PKHD1 regulátor szakasz érintettségnek a lehetőségét. Nála a fenotípus egyértelműen megfelel ARPKD kritériumainak, a követés során a kórlefolyás ennek enyhe formáját jelzi. Sokszor azonban az enyhe vagy közepes renális fenotípussal bíró betegeknél differenciáldiagnosztikai nehézséget okozhat a vesék kevésbé típusos, csupán mérsékelt megnagyobbodása.

A magassághoz viszonyított kranio-kaudális vesehossz egy nemrégiben megjelent közlemény [123] szerint kevésbé alkalmas utánkövetésre, mint a teljes vesetérfogat. Utóbbi konzekvensen arányos nem csupán a testmagassággal, hanem a vesefunkció beszűkülés mértékével is, bár természetesen a teljes vese térfogat és az eGFR között fordított arányossági kapcsolat áll fenn. Ennek magyarázata lehet, hogy a vesehossz, bár folyamatosan növekszik, nem olyan progresszív mértékben, mint például ADPKD esetén, és idővel a haránt átmérő

növekedéssel együtt, vagyis a teljes vese térfogatot kalkulálva kapjuk meg a testarányokkal és a vesefunkcióval összevethető változót. Ismert, hogy a nagyméretű vesék átmérőinek vizualizálása sokszor nem egyszerű radiológiai feladat, így a napi gyakorlatban sok esetben csak a hosszanti átmérők kerülnek megadásra. A gondozó centrumokban eltérés mutatkozik abban, hogy a vesehossz vagy a vese térfogat, esetleg mindkettő megadásra kerül. Összehasonlító vizsgálatok eredménye alapján az ultrahang az elfogadott és javasolt vizsgálat a gyermekek renális statusának követésére ARPKD-ben, a kisiskolás kort megelőzően csak szedációval kivitelezhető MRI vizsgálat tehát nem indokolt. A szerzők további megállapítása szerint az első 18 élethónapban mért legnagyobb teljes vese térfogat alapján jósolható a várható vese élettartam, a végstádiumú veseelégtelenség kialakulásának üteme. Minél nagyobb a vesetérfogatra, annál gyorsabb a későbbiekben a vesefunkció hanyatlása. Az általunk vizsgált betegpopulációban úgy találtuk, hogy az extrém mértékben megnagyobbodott vesék (a kranio-kaudális hossz +4 SD fölött) specifikusak ARPKD-re, a diagnózis valószínűségét növelik. A „second locus” mutációt hordozó betegek között ugyanakkor a PKD1 mutációt hordozó (P29 és P30) betegek vese mérete közelíti, vagy meghaladja a veseérintettség észlelése idején, illetve a követés során ezt a mértéket. A több centrumban történő beteggondozás miatt teljes vesetérfogatra vonatkozó adatokat nem sikerült egységesen nyerni, így erre vonatkozó adatokat összehasonlítani nem tudtam. Azonban a 18 hónapos kor alatt mért kranio-kaudális átmérő és vesefunkció alapján is tapasztaltam egyértelmű összefüggést a vizsgálati csoportunkban. A fent említett, specifikus +4 SD értéket vettem alapul az adatok összevetése során. A perinatális időszakot túlélő, de a vizsgálat idejéig vesetranszplantáción át nem esett 13 ARPKD beteg között (az átlagéletkoruk 9,038 év) 5 betegnél (38%) észleltünk már 18 hónapos kor előtt +4 SD fölötti veseméretet. Ezen 5 beteg között csupán egy betegnek alakult ki 6 éves korra végstádiumú veseelégtelensége (P25), és egy beteg (P11) jutott 12 éves korára CKD IV stádiumba, a másik 3 beteg megtartott, vagy csak enyhén-közepesen beszűkült (CKD II-III stádium) vesefunkcióval bír (átlagéletkoruk 7,33 év). A további 8 nem transzplantált betegnél, ahol a veseméret növekedése lassabb ütemű volt, vagyis nem érte el a +4 SD értéket, CKD I-II stádiumú, többnyire megtartott vesefunkciót találtam (átlagéletkoruk: 10,125 év). A perinatális időszakot túlélő, de végstádiumú veseelégtelenség miatt vesetranszplantáción átesett 5 beteg közül 4-nél (80%) észleltünk már 18 hónapos kor alatt +4 SD fölötti veseméretet, egy betegről nincs ilyen korai életkorból származó adat. Mindezek alapján, noha az alacsony esetszám miatt szignifikanciáról ugyan nem beszélhetünk, de egyértelműen korrelál a vese hosszabbik átmérője és a vesefunkció romlásának mértéke.

Az első életévben megjelenő hipertónia ebben a vizsgálati kohorszban specifikusnak mondható ARPKD-re. Irodalmi adatok alapján az ARPKD betegeknel a domináns típushoz viszonyítva fiatalabb életkorban alakul ki hipertónia, noha újszülöttkortól adolescens korig bármikor felléphet. A hipertónia gyakoriságát 65-86% közöttire teszik a különböző vizsgálati csoportokban [116, 124-127], és sok esetben csak nagy dózisú, vagy kombinált gyógyszeres terápiával orvosolható [116]. Érdekesség, hogy a csecsemőkorban kialakuló hipertónia „szelídül” kisdedkorban, bár ennek élettani magyarázata nem egyértelmű [128]. A hipertónia nem feltétlenül a beszűkült vesefunkcióval párhuzamosan jelentkezik, már évekkorábban is megjelenhet [125, 127]. Egyes szerzők összefüggésbe hozzák a hipertóniával az ARPKD-s gyermekekre gyakran jellemző hiponatrémiát [129]. A hiponatrémia hátterében nem a fokozott renális nátriumvesztés áll, és mivel még a krónikus vesekárosodás előtt jellemző, nincs összefüggésben a károsodott tubulusfunkcióval sem. Feltehetőleg a megváltozott szabadvíz clearance és a fokozott nátrium reabszorpció okozta hipervolémia állhat a hátterében, ami különösen a csecsemőket érinti [124, 125, 127, 130]. A gyakori hiponatrémia és a hipertónia összefüggését a vizsgálati csoportban nem egységesen fellelhető adatok miatt csak részlegesen tudtam vizsgálni. A biallélikus PKHD1 mutációt hordozó 27 beteg közül összesen 12 gyermeknél fordult elő csecsemőkori hiponatrémia, közülük 4 gyermek a perinatálisan exitált alcsoportba tartozik. 10 gyermek esetében nem jelent meg alacsony nátrium szint, 5 gyermekről pedig nem állt rendelkezésre megfelelő adat. A 12 hiponatrémiás gyermek közül 9-nél (75%) korai hipertónia lépett fel. Ez közelítően hasonló az irodalomban található adatokhoz, mely szerint korai hipertóniában az ARPKD-s gyermekek akár 96%-a hiponatrémiára hajlamos [125]. A hipertónia patomechanizmusa tehát nem teljesen tisztázott, a lokális intrarenális parakrin renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) aktivációja és az EGF (epidermális növekedési faktor) – EGFR (növekedési faktor receptor) - cAMP vonal aktivációja merült fel. Szisztémás RAAS aktivációt mindezidáig nem igazoltak egyértelműen, ennek ellenére elsőként választandó terápiás szer az angiotenzin konvertáz enzim (ACE)-inhibitor, illetve angiotenzin receptor blokkoló (ARB) terápia. Szükség szerint kombinálható kalcium-csatorna blokkoló kezeléssel, továbbá a sószegény étrend jótékony kiegészítője a normotenzió fenntartásának ARPKD-s gyermekeknél [128]. A betegeink között 38%-ban ACE-gátló, 5%-ban ARB, 33%-ban kalcium csatorna blokkoló, 14.5%-ban diuretikum (hydrochlorothiazid vagy furosemid), 9.5%-ban β -blokkoló terápia került beállításra. Monoterápiában 5 gyermek részesült, 3 gyermek igényelt kettős kombinációt (ACE-inhibitor és diuretikum), 2 gyermek hármas gyógyszerkombinációt, és csupán egy gyermek volt, akinek négyes gyógyszerkombinációval lehetett csak uralni a magas vérnyomás betegségét. A „second locus” mutációt hordozók között

csak a nephronophthisis talaján kialakult végstádiumú veseelégtelenség állapotában lévő P35 betegnél észleltünk késői hipertóniát, ő ACE-inhibitor kezelésben részesült. Ugyanakkor az ADPKD korai formájával élő két beteg (P29 és P30), illetve a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával élő beteg (P31) is rizikócsoporthipertónia szempontjából. Fiatal életkoruk magyarázhatja, hogy náluk a vizsgálat idejéig nem alakult ki magasvérnyomás betegség. A „second locus” mutációt hordozó 8 gyermek közül 1 betegnél (P29) igazolódott csecsemőkori hiponatrémia, de tekintettel arra, hogy ebben a betegcsoportban mindösszesen 2 betegről állt rendelkezésre megfelelő adat, így a gyakoriság vizsgálata nem releváns.

Az irodalommal egybehangzóan találtuk, hogy a mutáció típusa nagyban meghatározza a betegség progresszióját, súlyosságát: a biallélikus funkcióvesztéssel járó („loss-of-function”) mutáció hordozók perinatálisan elhaláloznak [116, 131, 132]. Érdekes, hogy a P14-es betegnél észlelt, utolsó exont érintő p.Gly4013Alafs*24 mutáció nem jár a teljes funkció elvesztésével, mivel a betegnek a másik allélon hordozott 2 exont érintő mutációjával is enyhe fenotípusa van. Mindebből arra következtethetünk, hogy a fibrocisztin C-terminális, intracelluláris végén lévő 62 aminosav elvesztése még részlegesen megtartott funkcióval bíró fehérjét kódol. A fibrocisztin intracelluláris C-terminális része 192 aminosavból áll, és ismert, hogy az mTOR útvonal modulálásában játszik szerepet [23]. Ugyancsak tartalmazza a ciliáris target szekvenciát (p.3876_3893CLVCCWLKRSKSRKTKPE), ami érintetlen marad a Gly4013Alafs*24 fibrocisztinben [133]. Ehhez a C-terminális trunkáns mutáció hipomorfizmushoz hasonló, hogy azon egérmodellben, ahol az utolsó, nukleáris lokalizációs szignált és a policisztin 2 kötő domént kódoló, 67 exon deléción áll fenn, normál fenotípus alakul ki [134]. A mutációk gyakoriságát tekintve úgy találtuk, hogy a vizsgálati csoportban leggyakoribb p.Thr36Met mutáció nem csupán nálunk, hanem Európa-szerte meglehetősen gyakori, az ARPKD betegek 10-15%-ában mutatható ki kóroki eltérésként [28].

Egyes szerzők szerint a fehérjeszakaszok érintettsége alapján genotípus-fenotípus összefüggések határozhatóak meg a két főként érintett szerv, vagyis a vese és a máj működésének vonatkozásában az alábbiak szerint. A fibrocisztin fehérje 709-1837 (első) aminosav régiójában két misszensz, vagy egy misszensz és egy trunkáns mutációt hordozó betegeknél később, lassabban alakul ki krónikus vesekárosodás. Az 1838-2624 (második) aminosav régióban két misszensz mutációt hordozóknál kedvezőbb a máj fenotípus, míg a 2625-4074 (harmadik) aminosav régió érintettsége kedvezőtlen máj fenotípussal jár [135]. A nevezett vizsgálat 304 páciens adatait elemezte. Az általam vizsgált szűkebb betegcsoportban a lényegesen kisebb esetszám révén csak kisfokban összevethetőek az eredmények, de kiemelve

a májérintettség legsúlyosabb formáját, a májtranszplantációt igénylő májelégtelenséget, két beteg adatait (P10 és P12) vizsgálva ennek némileg ellentmondó megfigyelést tehetek: a P10 páciensnél az első aminosav régióban trunkáns, a második aminosav régióban misszensz mutáció igazolódott, emellett már korán, 4 évesen végstádiumú máj- és veseelégtelenség miatt transzplantáción esett át. Vagyis nem igazolt, hogy a második aminosav régióban legalább egy misszensz mutáció hepatoprotektív hatással bírna. Ugyanakkor a P12 beteg valóban mindkét allélon a harmadik aminosav régiót érintő mutációt hordoz (1 missense+1 trunkáns mutáció), de csak 25 éves korában vált szükségessé a kombinált máj- és vesetranszplantáció. A vesefunkció hanyatlás mértékére tett genotípus-fenotípus megállapítás csupán az első aminosav régióban mutatott szignifikáns különbséget, az egyéb régiókban nem volt meghatározható egyértelmű tendencia a közlemény szerint. A mi vizsgálati populációnkban öt beteg (P4, P5, P13, P16 és P17) örvendett élettani vesefunkciónak (8, 11, 14, 8 és 5 éves korukban a legutolsó kontroll során), közülük csupán a P13 beteg hordoz a nevezett első aminosav régióban egy misszensz mutációt, a többi beteg 50%-ban az ezt megelőző szakaszon (1-708 aminosav régió), illetve a távolabbi két aminosav régióban. Kiemelendő, hogy a P13, P16 és P17 betegeknél mind a máj, mind a veseérintettség tekintetében enyhe fenotípus mutatkozott.

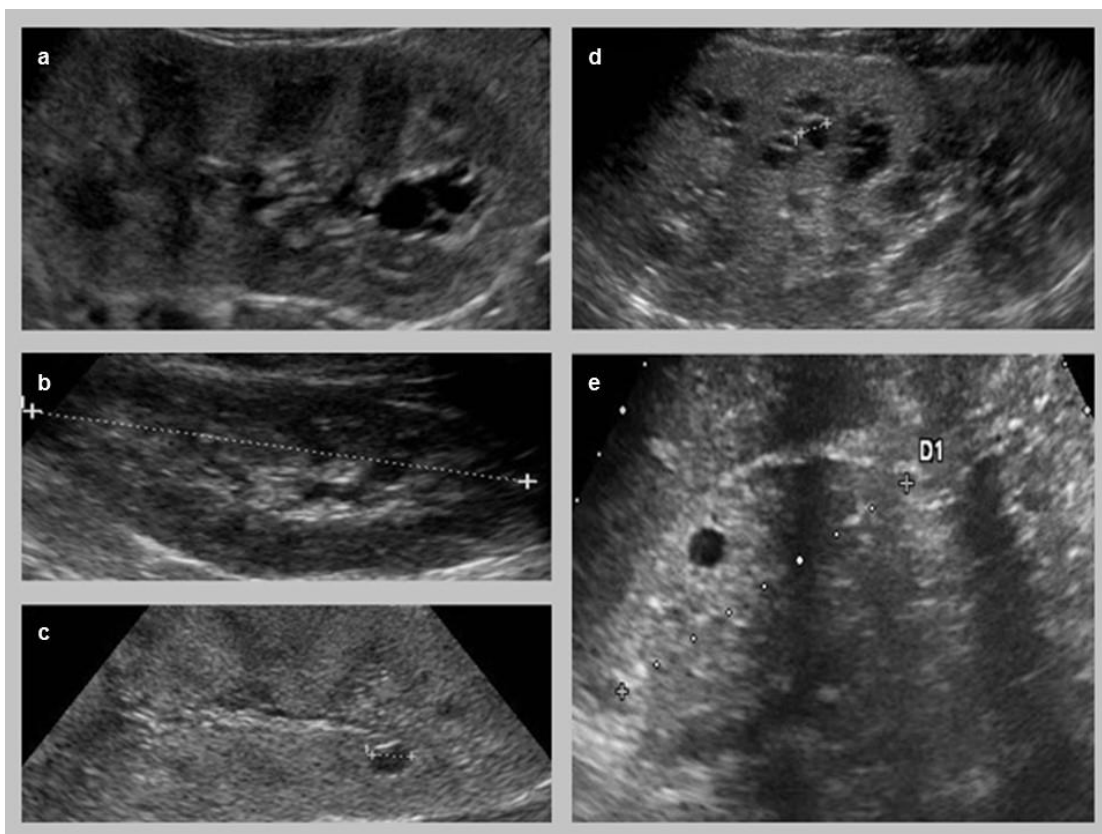
Az ARPKD betegek körében a súlyos megjelenésű formáknál jellemző az újszülöttkori respirációs nehezítettség, melynek hátterében leginkább az extrém mértékben megnagyobbodott vesék okozta pulmonális hipoplázia áll. Irodalmi adatok alapján a betegek mintegy 31-41%-ánál lép fel légzéstámogatás igénye [125, 136, 137]. Az általunk vizsgált betegek között 70%-ban vált szükségessé a perinatális időszakban invazív vagy non-invazív lélegeztetés, majd az érintett betegek csaknem fele (19 betegből 9) perinatálisan exitált. A túlélők utánkövetése során nem történt összevethető adatot szolgáltató légzésfunkciós vizsgálat, azonban irodalmi adatok alapján a perinatális időszakot túlélő betegek hosszútávú légzésfunkciója az elfogadott tartományon belül van, nem számottevően rosszabb az egészséges kortársaikhoz viszonyítva [138].

A májérintettség obligát tünete az ARPKD-nek. A vizsgálati csoportban 11 gyermeknél észleltünk hepatomegáliát (2 esetben splenomegáliával), 2 gyermeknél került leírásra cholestasis, 5 gyermeknél emelkedett májenzimek mutatkoztak a laborértékekben. Mindezek korai, kevésbé súlyos megnyilvánulásai a Caroli betegségnek. A gyulladásoz folyamatok, az ismétlődő aszcendáló cholangitis, a non-obstruktív epeúti tágulatok kialakulásával gyakoribbá válnak. A kórképhez társuló májfibrózis kimutatásának gold standardja jelenleg is a májbiopszia, noha az egyre kifinomultabb képalkotó vizsgálati módszerek és a speciális

fibroscan eljárás segítségével már noninvazív úton is diagnosztizálható. Az ARPKD páciensek közül 3 betegnél igazolták a fibrózist, mindhármuknál már kisdedkorban. A következményes portális hipertónia, varixok kialakulása, életveszélyes gasztrointesztinális vérzések, proteinvesztő enteropátia előrehaladott állapotot tükröznek, direkt jelei a fenyegető májelégtelenségnek, ami a vizsgálat során igazolt ARPKD betegek közül két gyermek esetében tette szükségessé májtranszplantáció elvégzését. Tekintettel arra, hogy a neonatológiai ellátás fejlődésével egyre nagyobb a súlyos fenotípusú ARPKD gyermekek túlélési esélye, várhatóan egyre több lesz a potenciálisan máj- és vesetranszplantációra váró fiatal felnőtt beteg.

A PKHD1 mutáció negatív betegek fenotípusának értékelése során az alábbi megfigyelések vezettek a végső diagnózis felállításához: a PKD1 mutációt hordozó betegek veséinek ultrahang képe már intrauterin vizsgálatok során hiperechogénnek mutatkozott, melyet postnatális vizsgálatok is megerősítettek, az ekkor pontosan mért vesehossz jócskán meghaladta az átlagot, majd a gyermekek növekedésével a vesék átlagoshoz viszonyított mérete kevéssé, ám a ciszták átmérője rapidan növekedett. Így összességében a kezdeti számos, 2-3 mm-es ciszta 25-27 mm nagyságúra növekedése jelezte, hogy korán megmutatkozó, domináns forma fennállása valószínű. Hangsúlyozandó, hogy mindkét ADPKD betegnél de novo alakult ki a mutáció, ami a megszokott gyakorlati diagnosztikát nehezíti. A PKD1-TSC2 folyamatos géndeléciót hordozó gyermek esetén ehhez hasonló volt a renális fenotípus időbeni változása, ami a PKD1 érintettséget önmagában is felvetette, azonban az egyéb szervi érintettség, úgymint a kültakaró típusos eltérései (bőr- és köröm léziók), a központi idegrendszeri tünetek sclerosis tuberosa egyidejű fennállását, vagyis a kettős gén érintettséget jelezték. A HNF1B deléciót hordozó betegek esetén a perinatálisan gyanított kezdeti diagnózis megcáfolása valamelyest nehezebb volt, hiszen a vesék méretének átlagoshoz viszonyított csökkenése csak későbbi életkorban mutatkozott meg, és egyéb jellegzetes tünet, mint a genitális malformációk, az ioneltérések, hiperurikémia, szénhidrát anyagcserezavar kialakulása sokáig nem segítette a diagnózist. Mégis, mintegy kizárásos diagnózisként gondolnunk kell a kórképre. A nephronophthisis tipikus klinikai megjelenése, hogy az adolescens korú beteg „hirtelen krónikus veseelégtelen” állapotban érkezik, noha korábban tünete, panasza egyáltalán nem volt. Így történt ez a P35 gyermeknél is. A vese megjelenése kezdetben aligha karakteres, ebben a periódusban pedig már nem csupán az alapbetegség jegyeit, hanem a krónikus károsodás következtében kialakuló és a kórképre egyebekben kevéssé jellemző cisztákat is magában hordozza. Mindez egyfelől a diagnózis felállítását nehezíti, másfelől fontos különbség, hogy a ciszták alacsonyabb száma, illetve corticalis-corticomedullaris elhelyezkedése a klinikummal

együtt értékelve inkább NPHP mutáció irányába mutat. Továbbá éppen az adhat választ a differenciáldiagnosztikai kérdésre, hogy korábbi képalkotó vizsgálat semmilyen jellegzetes renális eltérést nem említ. A TMEM67 mutáció következtében kialakuló, Boichis szindrómával élő testvérpár esetén a tünetszegény májérintettség sokáig elrejtette a valós diagnózist. Azonban az idő előrehaladtával egyre markánsabban mutatkozott meg a kórképre jellegzetes veseméret csökkenés, hiszen az utolsó képalkotó vizsgálat alkalmával már -2.8 , illetve -4.7 SD volt a veséik hossza az átlagoshoz képest.



2.kép A PKHD1 mutáció negatív páciensek ultrahang vizsgálatának összefoglalója **a)** a P30 páciens PKD1 de novo mutációval, a bal oldali hiperreflektív, enyhén nagyobb ($+0.89$ SD) vese egy nagy és több kicsi cisztával 2 hónapos korban **b)** a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómával diagnosztizált beteg 3 éves korban készült ultrahang képe, a bal vese enyhén megnagyobbodott ($+0.54$ SD), benne néhány kicsi és egy nagyobb ciszta **c)** A P32 gyermek HNF1B delécióval, a 2 hónapos korban készült ultrahang a jobb oldali hiperreflektív vesében egy cisztát írt le, a vese közepes fokban nagyobb az átlagnál ($+1.32$ SD) **d)** A P35 páciens NPHP1 mutációval, a hiperreflektív vese (bal oldal, $+0.34$ SD) számos hasonló méretű cisztával, 11 éves korban észlelve **e)** A P37 beteg TMEM67 mutációval élő testvérpár egyik tagja. A jobb oldali, kicsi és hiperreflektív vese (-2.65 SD) képe, egy cisztával, 13 éves korban.

A kezdeti diagnózis idején talált megnagyobbodott vesék mérete gyermekkorban csökkent, a nephronophthisisben jellemző módon.

Megemlítendő, hogy a fent ismertetett eredmények alapján készült az első olyan összefoglaló közlemény, ami a magyarországi gyermeknefrológiai centrumokban gondozott ARPKD betegek dokumentációját elemezte. A folyamatosan bővülő beteganyag, illetve a betegek további követése mindezen információk kiteljesedését, az ezekből levont konklúziók formálását teszi lehetővé, ami elengedhetetlen a hosszútávú gondozási stratégiák kialakításában és az egyes centrumok közötti tapasztalatcsere, együttműködés fenntartásában.

5.2 TSC2-PKD1 FOLYAMATOS GÉNDELÉCIÓS SZINDRÓMÁVAL ÉLŐ BETEGEK MEGBESZÉLÉSE

A TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindrómát elsőként Brook-Carter és munkatársai jegyezték le 1994-ben [139]. Az általuk közölt 6 beteg mindegyikénél már csecsemőkorban észlelhető volt a típusos megjelenésű kétoldali policisztás veseérintettség, illetve epileptiform rohamok jelentkeztek, később mindegyikükönél jellegzetes bőrtünetek mutatkoztak. Emellett 6-ból 5 gyermeknél korán kialakult a hipertónia. Az általunk vizsgált betegeknél a renális fenotípus hasonló jellegzetességet mutatott, azaz a korai ciszta megjelenés (mindkét vesében több, mint 10 ciszta, a legnagyobb átmérő 2 cm fölötti), és a vesék megnagyobbodása. Emellett azonban a 4-ből 3 beteg esetében a kardiális rhabdomyoma megjelenése volt a betegség első alarmírozó tünete. Emiatt az első beteg eleinte policisztás vesebetegség diagnózisával került nefrológiai gondozásba, míg a többi három beteg sclerosis tuberosa diagnózisát kapta. Az első betegnél 5 éves korban felfedezhető hipopigmentált foltok vetették fel sclerosis tuberosa társulásának lehetőségét, a többi beteg esetében a követés során egyre nagyobb mértékben képződő ciszták terelték a gondolatot a kettős générítettség felé. Noha a sclerosis tuberosa kritériumrendszerében a veseciszták csupán minor kritériumtünetként szerepelnek, a differenciáldiagnosztika során kiemelt jelentőséggel bírnak. Összehasonlítva a TSC betegeket a TSC2-PKD1-FGDS betegekkal utóbbiaknál a számukban és méretükben rapidan növekvő ciszták dominálnak lényegesen kisebb számú és méretű AML mellett. A tünetet, panaszt okozó veseciszták 30-50%-ban fordulnak elő [76]. A ciszták ruptúrája miatt makroszkópos hematuria alakulhat ki, azonban a vérzés súlyossága kisebb fokú, mint az AML-k bevérzése esetén. Az első és a harmadik páciensnél az AML-k megjelenése a TSC2

érintettségnek ellentmondóan nagyon késői. A második betegnél látott, korán megjelenő, fokozott növekedést mutató AML-k mondhatóak típusosnak a TSC2 gén érintettsége esetén. Azonban a látott renális tünetek feltehetőleg módosultak a neurológiai indikációval kezdett everolimusz terápiának köszönhetően.

Jelenlegi ajánlások szerint az elsőként választandó kezelés 3 cm-t elérő, vagy azt meghaladó, illetve rapidan növekvő AML-k esetén az mTOR inhibitor everolimusz vagy sziirolimus. Az ismételt vagy kiterjesztett embolizáció már nem korszerű eljárás, illetve az akut vérzéssel járó esetekre szorítkozik alkalmazása. Az everolimusszal végzett átfogó vizsgálatosorozat (EXIST trial) kimutatta, hogy a szer alkalmazása jelentősen csökkenti az AML-k méretét, növekedési ütemét, és segít fenntartani a vesefunkciót [140]. Emellett a veseciszták száma, átmérője és térfogata is csökkent az mTOR-inhibitor alkalmazása mellett [141]. A második betegünkönél az everolimusz lelassította az AML-ek és a ciszták növekedési ütemét. A harmadik betegnek még mindig nincs kimutatható AML-je, valószínűleg az everolimusz-terápia miatt. Az everolimusz biztonságosan alkalmazható csecsemő- és gyermekkorban szoros követés, rendszeres gyógyszer szint monitorozás mellett, noha az enyhe mellékhatások fokozottabban jelentkeznek ebben a beteg populációban [142]. Gyakoribb, enyhébb mellékhatások lehetnek az immunszuppresszív hatással magyarázható fertőzésekre való fogékonyság, a sztomatitis, vagyis a szájnyálkahártya aftózus elváltozásai, a fáradékonyság, a fejfájás, csökkent étvágy, hányinger, hasmenés, közepesen súlyos mellékhatás a proteinuria, a hiperkoleszterinémia, hiperglikémia, a vérképzőszervi eltérések (anémia, thrombocytopenia, neutropenia), a pneumonitisz. A vizsgálatba bevont betegek körében a két betegnél alkalmazott everolimusz kezelés során nem észleltünk súlyos mellékhatásokat, enyhe mellékhatásokként a fertőzésekre való fogékonyság, stomatitis aphthosa és enyhe metabolikus eltérések (diétával kezelhető hypercholesterinemia) voltak észlelhetőek. A fent említett vizsgálat eredményei alapján a terápia elhagyása után az AML-k rapid növekedése indul meg, ami az mTOR-inhibitor reverzibilis hatását jelzi [76]. Az mTOR-gátló terápiát policisztás vesebetegek körében is biztonságosan alkalmazták, azonban a progressziót lassító hatása nem volt kifejezett [143]. Preklinikai állatmodell kísérletek ígéretes eredménnyel zárultak, és in vivo vizsgálatok is igazolták, hogy az everolimusz képes csökkenteni a ciszták méretének növekedését ADPKD betegekben. Noha logikus elgondolás, hogy amennyiben a ciszták kisebb mértékben komprimálják, károsítják a működő veseparenchymát, úgy a vesefunkció megőrzésében is segít a terápia, azonban a hosszú távú utánkövetés során ez nem igazolódtott. Az egyik lehetséges magyarázat a preklinikai és klinikai vizsgálatok közötti diszkrepanciára,

hogy a ciszták epitél sejtjei nem folyamatosan mutatnak mTOR aktivációt. Ez az útvonal csak az ADPKD cisztaképződés bizonyos szakaszaiban aktív. Továbbá a megváltozott, fokozott mTOR aktivitás nem korlátozódik az ADPKD fehérjék funkciójának elvesztésére, hanem a TSC1 és TSC2 fehérjék funkcióvesztéséből is adódhat [144]. Egyes tanulmányok felvetik annak lehetőségét, hogy a kezelés csak a betegség korai szakaszában lehet eredményes [141]. Az első beteg eddig nem részesült everolimusz kezelésben, a legnagyobb cisztájának átmérője azonban nem tér el lényegesen a második, fiatalabb életkorú beteg legnagyobb veseciszta méretétől, noha ő 3 éve kapja ezt a kezelést. Mindezek alapján a fenti hipotézis nem igazolható az általunk vizsgált betegek körében. A harmadik beteg csaknem 10 éve tartó everolimusz kezelést követően hasonlóan nagy cisztákkal él, mint az első beteg. Ez alátámasztani látszik a korábbiakban leírt, nagy esetszámú vizsgálatokban tett megfigyelést arról, hogy a ciszták növekedési ütemének lassítása csupán átmeneti [143]. Ezeket fontolóra véve a TSC2-PKD1-FGDS gyermekek nefrológiai indikációval történő everolimusz kezelése nagy dilemma lehet. Ebben a szűk betegcsoportban nincsenek elérhető ajánlások erre vonatkozóan, csupán esetleírások, illetve a két külön kórkép esetében történt vizsgálatok adatait explorálhatjuk. Ugyanakkor a nem nefrológiai indikációval, korai életévekben indított mTOR-gátló kezelés módosíthatja a renális tüneteket, mely nehezítheti a megfelelő diagnózis felállítását a gyermeknefrológus szemszögéből. Újabb terápiás lehetőségek még kísérleti fázisban vannak [76, 145]. A második generációs mTOR-inhibitorok az mTOR fehérje komplex ATP katalitikus egységet blokkolják (ATP-competitive inhibitors: TOR-KIs) fokozott specificitással. A kettős foszfatidil-inozitol-3-kináz/mTOR inhibitorok kompetitív inhibitorokként működnek, és az mTOR komplexek ATP-kötő helyéhez kapcsolódnak. Az ígéretes jótékony hatásuk ellenére azonban a klinikai vizsgálatok során tapasztalt káros mellékhatások aggasztóak. A harmadik generációs készítmények (RapaLink-1) nem csupán az mTOR ATP-kötőhelyéhez, hanem a rapamycin-kötőhelyéhez is kapcsolódnak. A hatékonyság fokozására, illetve a mellékhatások, rezisztencia kialakulásának csökkentése céljából kerültek kifejlesztésre [76].

A hipertónia kialakulása több korábbi tanulmány szerint is korrelál a veseméret növekedésével, vagyis a teljes vese térfogattal [146-148]. ADPKD esetén az érintettek 20%-ánál már gyermekkorban kialakul a hipertónia, ami sok esetben alul-diagnosztizált marad, szövődmények lehetőségét magában hordozva [149]. Mindez a vesefunkció és magasvérnyomás rendszeres ellenőrzésének szükségességét jelzi még stabil vesefunkciójú policisztás vesebetegek esetében is. A fenti eredményeket támasztja alá vizsgálatomban, hogy az első és a harmadik betegnél a hipertónia megtartott vesefunkció mellett lépett fel, de a teljes

vesetérfogat fokozott növekedésével egyenes arányban. A negyedik beteg esetében a beszűkülő vesefunkcióval párhuzamosan alakult ki magas vérnyomás, de az ő esetében a szoliter vese kifejezett megnagyobbodása, esetlegesen társuló (a proteinuria megjelenése alapján gyanított) szekunder FSGS is befolyásolhatta mindezt.

A TSC2-PKD1-FGDS betegek követése során a képalkotó vizsgálatok gyakorítása javasolt. Sclerosis tuberosával élő betegekre vonatkozó ajánlás, hogy 1-3 évente történjen hasi ultrahang vagy MRI vizsgálat [95]. Adoleszcens korig javasolt az ultrahang vizsgálat, ezt követően, amikor az MRI már szedáció nélkül kivitelezhető a gyermeknél inkább hasi MRI vizsgálat választandó. Hasonlóan, ADPKD betegek körében is javasolt az évente végzett képalkotó vizsgálat, illetve a teljes vesetérfogat mérése. A felnőttekkel ellentétben, a vesetérfogat kalkulációja ellipszoid formula segítségével ultrahang vizsgálat során adekvát metódus lehet [95]. Ugyanakkor TSC2-PKD1-FGDS esetén már 6 éves kortól előnyös lehet hasi MRI végzése, mivel a számos, rapidan növekvő ciszta mellett ultrahang vizsgálat során észrevétlen maradhat egy kialakuló, apró AML, melynek megfelelő követése így nem lehetséges [95]. Betegeink körében legalább 6 havonta végeztük a képalkotó vizsgálati kontrollt, olykor szükség szerint párhuzamosan, ultrahang, illetve MRI készítésével.

Az ADPKD extrarenális tünetei a TSC2-PKD1 folyamatos géndeléciós szindróma esetén is jelentkezhetnek, de súlyosabb formában. ADPKD betegek mintegy 8%-ánál észlelhető intrakraniális aneurizma, melynek ruptúrája több, mint 50%-os mortalitással jár [150]. Összehasonlítva az ADPKD betegeket és a TSC2-PKD1-FGDS betegeket, utóbbi csoportban az aneurizma ruptúra következtében kialakuló intrakraniális vérzés rizikója fokozott [151]. A betegek ezirányú szűrését tekintve nincs egyértelmű konszenzus, de ahol terhelő családi anamnesztikus adat szerepel, a második életévtized végén javasolt koponya MR-angiográfia elvégzése. További gyakran megfigyelt extrarenális tünet a májciszta jelenléte, mely az első, a második és a harmadik betegnél is mutatkozott, mindezidáig tünetmentesen. A betegek többségében tünetmentes policisztás májbetegség társulhat a kórképhez, csupán a női multiparitás (feltehetőleg az ösztrogén és progeszteron hatása miatt) fokozza az esetleges komplikációk lehetőségét [152]. Cholangitis, ciszta infekció, ruptúra és vérzés alakulhat ki.

Irodalmi adatok alapján a sclerosis tuberosával élő betegek között a tumorok kialakulásának átlagos ideje 36 éves kor körül van [153]. Ugyanakkor több esetismertetés bizonyítja, hogy a betegséggel élő gyermekek körében is gyakori a tumorok kialakulása [154]. A negyedik betegnek nem típusos megjelenésű és ismétlődő malignus tumoros elváltozásai alakultak ki. Az irodalmi adatokat áttekintve azt találtam, hogy korábban sosem jegyezték le nephroblastoma

kialakulást sclerosis tuberosával vagy ADPKD-vel élő betegben. A nephroblastoma kialakulása a WT1 tumorszuppresszor gén szomatikus, illetve csírasejt mutációjával hozható összefüggésbe. Nem történt vizsgálat a negyedik betegnél annak szűrésére, vajon hordoz-e WT1 mutációt, azonban irodalmi ritkaságnak számítana a WT1 gén mutáció és a TSC2-PKD1-FGDS együttes fennállása. Néhány szerző utal arra, hogy összefüggés lehet az mTOR útvonal aktivációja és a Wilms tumor kialakulása között, de a részleteket egyelőre homály fedi [155]. A negyedik beteg második tumora vesesejtes karcinóma volt, ami mind sclerosis tuberosában, mind ADPKD-ben előfordulhat. Azonban a vesesejtes karcinóma általában ADPKD késői stádiumában, végstádiumú veseelégtelenség idején jelentkezik, és gyakran multifokális, vagy kétoldali folyamat [156]. A negyedik páciensnél ilyen fiatal életkorban jelentkező karcinóma figyelemfelkeltő volt, kiváltképp az évekkel korábbi onkológiai tünettől. Emiatt döntöttünk a genetikai vizsgálat kiterjesztése mellett. Az MLPA vizsgálati keret kibővítésével igazolódott az NTHL1 gén első exonjának deléciója. Az NTHL1 gén közvetlenül a TSC2 gén előtt található, fej a fejhez pozícióban, és egy 312 aminosavból álló DNS-glikoziláz enzimet kódol (endonukleáz III-szerű fehérje 1). A gén homozigóta mutációi következtében leggyakrabban a gyomor- bél traktust érintő malignómák, kolorektális karcinóma, vagy emlőrák alakulnak ki [157]. Leírták uroteliális és mezoteliális tumorok előfordulását is. Azonban heterozigóta mutáció esetén inkább benignus elváltozások jellemzőek. Egy feltételezett „second-hit” szomatikus mutáció magyarázhatja a betegünk malignus tumorát, de ezirányú vizsgálatok nem történtek. Azonban hangsúlyozandó, hogy az irodalom átvizsgálása során úgy találtam, ez a második olyan eset, amikor a 3 nevezett gén érintettsége okozza a páciens tüneteit [158], illetve az általunk írt közlemény volt legjobb ismeretünk szerint az első, amiben az NTHL1-TSC2-PKD1 gén együttes, folyamatos deléciója igazolódott.

A genetikai vizsgálatok indítványozása mind ADPKD, mind sclerosis tuberosa esetén dilemmát jelenthet. A hazai hétköznapi gyakorlatban a családfa analízis, az autoszomális domináns öröklésmenet, a típusos, mindkét vesében több centiméteresre növekvő veseciszták, esetleges exrarenális ciszták jelenléte alapján klinikai genetikussal történő konzultáció keretében kimondható az autoszomális domináns policisztás vesebetegség diagnózisa. A betegség lefolyásából adódóan még a prenatális diagnosztikai vizsgálat is etikai kérdéseket vetne fel (nem az élettel összeegyeztethetetlen elváltozások alakulnak ki, így a terhesség terminálására irányuló kérelem nem jogszerű). Emiatt az egyértelmű, típusos esetekben nem történik meg a PKD 1, illetve PKD 2 gének vizsgálata, ami nagy méretük miatt technikai szempontból is kihívást jelenthet. Ugyanakkor a molekuláris genetikai vizsgálat feltárhatja a

pontos defektust, és az eredmény a betegség progressziójának előrejelzésében és terápiás döntések meghozatalában létfontosságú lehet [159]. Az irodalomban a hazai gyakorlatnak valamelyest ellentmondó ajánlások fogalmazódtak meg. Bergmann és munkatársai által összefoglalva [14] az alábbi esetekben lehet indokolt az ADPKD diagnózisát genetikai vizsgálattal megerősíteni:

- olyan fiatal személynél, aki potenciális vesedonor lenne ADPKD-s hozzátartozója számára, különösen, ha egy-két ciszta mutatkozik a veséiben [160]
- negatív családi anamnézis mellett ADPKD megalapozott gyanújával a kórkép igazolására, illetve mozaicizmus vizsgálatára a családban [161]
- ismeretlen eredetű policisztás vesebetegség és negatív családi anamnézis esetén, ha családtervezés szempontjából az ismétlődés kockázatának ismerte fontos [162, 163]
- szokatlanul korai betegségkezdet esetén, hogy a biallélikus mutációkat azonosíthassuk, illetve egyéb komplex genetikai formákra fény derüljön [163-166]
- enyhe fenotípussal bíró betegeknek annak vizsgálatára, hogy a kórkép genetikai eredetű-e, illetve a kórok tisztázására [166]
- olyan betegeknek, akiknél terápia indítása tervezett, vagy akik klinikai vizsgálatban vesznek részt, és a pontos diagnózis felállítása szükséges ehhez, továbbá a rapidan progresszív forma meghatározására [14]
- minden ADPKD betegnél, ha megfelelően olcsó és megbízható az eljárás, hiszen így a betegek biztos diagnózist és prognosztikai információt kaphatnak [14]

Az irodalomban azonban nincs konszenzus arra nézve, hogy a mutáció típusa, vagy lokalizációja bír nagyobb jelentőséggel a genotípus-fenotípus összefüggésében [36, 167]. Az ADPKD genotípus-fenotípus összefüggéseinek eddigi vizsgálata összességében arra ad csak egyértelmű választ, hogy a mutáció típusa alapján feltételezhető reziduális fehérjetermék mennyisége szerint a rapidan progresszív forma kialakulása várható-e. Mindez kiemelten fontos, hiszen ezen esetekben lehet létjogosultsága az újabb gyógyszeres kezelések indításának. Jelenlegi ajánlások szerint a rapidan progrediáló felnőttkori ADPKD formáknál a tolvaptan adása megfontolandó. A készítmény egy vazopresszin 2 receptor antagonist, ami az arginin vazopresszin-mediálta cAMP képződés regulációja révén a cisztaképződés folyamatát lassítja. Ezzel párhuzamosan a vesefunkció megtartása is sikeresnek bizonyult eddigi vizsgálatok és a közölt irodalmi adatok alapján [168-170]. Azonban a klinikai vizsgálatok során észlelt mellékhatások miatt (úgy mint az aquaresis potenciális dehidrációval, ionértékek eltolódásával, a reverzibilis hepatocelluláris károsodás, fejfájás) a gyermek populációban történő alkalmazása

csak válogatott esetekben és szoros monitorozással lehetséges [163, 171]. Csupán néhány esetleírás jelzi az eredményes alkalmazás lehetőségét, noha nem csak policisztás vesebetegség, hanem nefrózis szindróma esetén, illetve szívsebészeti beavatkozást követő intenzív ellátás keretében került beállításra a készítmény, melyek során nagyobb mellékhatást nem észleltek [172-174]. Nem szabad azonban elfeledni, hogy a teljes vese térfogat növekedése gyermekkorban kifejezettebb a felnőttkorhoz képest, így a gyermekkori alkalmazás lehetősége nem elvetendő a súlyos, progresszív esetekben.

A sclerosis tuberosa diagnózisa a nemzetközi konszenzus munkacsoport irányelvei alapján alkotott kritériumrendszer szerint felállítható, 2 major vagy 1 major és két minor kritérium észlelése esetén. A genetikai vizsgálatok azonban könnyen elérhetőek hazánkban is. A TSC1 és TSC2 gének Sanger szekvenálása alkalmas pontmutációk vizsgálatára, amennyiben a szekvenálás nem azonosít mutációt, de a klinikum sclerosis tuberosának megfelel, javasolt MLPA vizsgálat vagy új generációs szekvenálás elvégzése nagyobb deléciók kimutatására. Azokban az esetekben, amikor a sclerosis tuberosa és az autoszomális dominiáns policisztás vesebetegség együttes fennállása feltételezhető, csak a genetikai vizsgálat erősítheti meg a diagnózist. Így azon betegeknél, akiknél a sclerosis tuberosa diagnózisa a kritériumok alapján kimondható, de a renális fenotípusra a korán kialakuló, rapidan több centiméteresre növekvő ciszták jellemzőek, korai vesetérfogattal növekedéssel, célzott MLPA vizsgálat vagy NGS elvégzése indokolt a TSC2 és PKD1 génekre nézve. Az etikai vonatkozás tekintetében megoszló vélemények, kételyek természetesen személyre szabott kivizsgálási tervet tesznek szükségessé. Azonban a gyermekek és szüleik megfelelő tájékoztatása a potenciálisan fennálló súlyosabb kórformáról elengedhetetlen. Ennek ismeretében adhatnak tájékozott beleegyezést a genetikai vizsgálatba, illetve utasíthatják vissza annak elvégzését. A nem típusos formában megjelenő TSC2-PKD1-FGDS esetén azonban a nefrológus munkáját segíti, ha igazoljuk, avagy kizárjuk a progresszívebb betegségformát. Sclerosis tuberosa esetén nem állapíthatóak meg pontos genotípus-fenotípus összefüggések még a pontos mutáció ismeretében sem, csupán néhány főbb, a bevezetőben említett megfigyelés konzekvens. Környezeti tényezők és egyéb ismeretlen faktorok befolyásolhatják a klinikai képet, még egy családon belül, az azonos mutációt hordozók között is észlelhető eltérés a betegség megjelenésében [175, 176]. A TSC2-PKD1-FGDS genetikai vizsgálatral megerősített diagnózisa azonban az irodalmi adatok alapján és beteganyagunk alapján is kimondottan felgyorsult vesefunkció károsodást, rosszabb prognózist jelent [177].

Bár a betegek számára csak a vesetranszplantáció jelenthet megoldást, bizonyos életmódbeli előírások betartása jótékony lehet a betegség progressziójára nézve. Ezért minden betegnek javasolt a megfelelő hidráció, sószegény étrend, tartózkodjanak a fokozott fehérjebeviteltől és az elhízástól [14]. A hipertónia megfelelő gyógyszeres terápiája szintén elengedhetetlen, ahogyan fontos az esetleges hiperlipidémia időben történő felismerése és szükség szerinti kezelése a krónikus veseelégtelenségben fokozódó kardiovaszkuláris szövődmények kivédésére.

5.3 KÖVETKEZTETÉSEK ARPKD ÉS TSC2-PKD1 FOLYAMATOS GÉNDELÉCIÓS SZINDRÓMÁVAL VIZSGÁLT BETEGEKRŐL

A célkitűzésben olvasható nefrogenetikai kérdések megválaszolásaként, továbbá a genotípus-fenotípus összefüggéseket illetően, a munkám során végzett megfigyelések alapján az alábbi következtetéseket vonhatom le:

1. ARPKD diagnózisa feltételezhető, és célzottan a PKHD1 gén vizsgálata javasolható, ha a policisztás vesebetegnél a következő fenotípusos jegyek észlelhetőek: a vesék kranio-kaudális hossza az életkori átlagot jelentősen, +4 SD meghaladja, de a legnagyobb ciszták átmérője a 2 cm-t nem haladja meg, ha a perinatális időszakban légzéstartogatási igény lépett fel, ha 1 éves kor előtt kialakul a sokszor súlyos hipertónia.
2. Amennyiben a PKHD1 gén szekvenálása során egyik allélon sem sikerül kóroki mutációt igazolni, úgy a feltételezett ARPKD diagnózisának újragondolása, a fenotípusos jegyek újraértékelése, vagyis fenokópiák keresése a következő stratégiai lépés. Biallélikus kópiaszám változás potenciálja alacsony, így MLPA vizsgálat csak a heterozigóta patogén pontmutáció igazolása esetén javasolt a másik allélon alacsony prevalenciával előforduló deléción, duplikáción vizsgálatára.
3. A sclerosis tuberosa renális kritériumtünetei között az általában kisebb átmérőjű ciszták, és az életkor folyamán akár több centiméteresre növekvő angiomyolipomák szerepelnek. Abban az esetben, amikor ez nem típusosan jelentkezik, hanem a számukban és méretükben rapidan növekvő ciszták dominálnak (3 éves kor előtt >10 ciszta, átmérőjük meghaladja a 2 cm-t), a kisebb, sokszor szinte észrevehetetlen AML-k mellett, akkor a sclerosis tuberosa és az autoszomális domináns policisztás vesebetegség együttes fennállása gyanítható. Ennek igazolásaként célzottan a TSC2

és a PKD1 gén MLPA vizsgálata javasolt a folyamatos géndeláció kimutatására. A genetikai vizsgálat elvégzésének indikációját adja, hogy a kórkép igazolása esetén szorosabb követési stratégia szükséges, továbbá a progresszív vesefunkció hanyatlás miatt az elérhető farmakoterápiás lehetőségek kihasználása felértékelődhet. A betegeknek a megfelelő tájékoztatást követően saját döntésük szerint joguk van tudni, hogy az évtizedekkel korábban fellépő végstádiumú veseelégtelenséggel kell-e számolniuk.

4. A TSC2-PKD1 folyamatos géndelációs szindróma felismerése is a fenotípusos jegyek időben állandó újraértékelésén alapszik, melyek a ritka kórképen belül is lehetnek atípusosak. A két gént érintő deléción kiterjedése változó, nagyon ritkán egy harmadik gén, a szomszédos NTHL1 egyes szakasza is kieshet deléción révén. Ennek MLPA vizsgálata akkor válhat szükségessé, ha a gyanítottan TSC2-PKD1-FGDS betegnél szokatlan, ismétlődő malignus folyamatok jelentkeznek fiatal életkorban.

6 ÖSSZEFOGLALÁS/SUMMARY

Összefoglalva azt találtam, hogy a klinikailag ARPKD-nak megfeleltethető esetek egynegyede valójában fenokópia lehet, melyeket egyéb ciliopátia gén érintettsége magyaráz. A vizsgált beteganyag alapján kiemelhető, hogy a perinatális légzéstartogatás igénye, a +4 SD-t meghaladó kranio-kaudális veseátmérő, a korán (1 éves kor előtt) megjelenő hipertónia a PKHD1 mutációval magyarázható ARPKD diagnózisának valószínűségét növeli. A hasonló fenotípussal megjelenő, de PKHD1 szekvenálás alapján eme génben mutációt nem hordozó betegeknél a feltételezett diagnózis újragondolása, a klinikum, a fenotípusos jegyek újraértékelése, és fenokópiák keresése a javasolt lépés. PKHD1 kópiaszám változás keresése (pl. MLPA vizsgálattal) azon esetben javasolható, ha a PKHD1 szekvenálás során heterozigóta mutáció azonosítható és egyértelműen ARPKD-ra utal a klinikai kép, feltételezve, hogy a másik allélon nagyobb deléción található. Ritka esetben azonban a genetikai vizsgálómódszerek kombinációja sem képest mutációt azonosítani, mely az intron mutációk, illetve promoter gének eltéréseinek lehetőségével magyarázhatók.

A TSC2-PKD1-folyamatos géndelációs szindróma előfordulása ritka, a kórisme elkülönítése a sclerosis tuberosa vagy ADPKD eseteitől olykor nehézkes (pl. nem típusos esetben, a sclerosis tuberosa tipikus tüneteinek hiányában, kezdetben csupán policisztás vesék

megjelenésével). Azonban a korán megjelenő, számukban és méretükben rapidan növekvő veseciszták (3 éves kor előtt >10 ciszta, átmérőjük meghaladja a 2 cm-t), illetve sclerosis tuberosa kritérium tüneteinek társulása esetén mindenképpen javasolt a célzott genetikai vizsgálat. Elsőként javasolt a TSC2 és a PKD1 gének MLPA vizsgálata nagy deléciók feltérképezésére, vagy újgenerációs szekvenálás végzése. A genetikai vizsgálat kiterjesztése a nem típusos TSC2-PKD1-FGDS esetén jön szóba, kifejezetten akkor, ha korai vagy rekurráló malignus tumorok alakulnak ki a betegnél. A vizsgálat korai elvégzését indokolja, hogy a pozitív eredmény a gondozó gyermeknevelő utánkötési stratégiáját nagyban meghatározza: gyakoribb képalkotó és laborvizsgálatok, sűrű vérnyomásmérelés szükséges a fokozott progresszió miatt, illetve az esetleges terápiás megfontolásokra is befolyással lehet a pontos genetikai diagnózis ismerete. Továbbá az érintett családoknak joguk van ismerni, a korán, akár a második életévtizedben bekövetkező végstádiumú veseelégtelenség rizikóját.

In summary, I found that a quarter of the clinically ARPKD cases can be phenocopies, involving other ciliopathy genes. Based on the examined patient cohort, it can be highlighted that the need for perinatal respiratory support, the exceeded cranio-caudal length of the kidneys above +4SD, and early appearing hypertension (before 1 year old) increase the possibility of ARPKD caused by PKHD1 mutations. In patients presenting similar phenotypes without any PKHD1 mutation identified by sequencing, reconsidering the presumed diagnosis, reevaluating phenotypic features, and looking for phenocopies are recommended. Searching for PKHD1 copy number variations (e.g. with MLPA testing) can be proposed if a heterozygous PKHD1 gene (point)mutation can be identified by sequencing and the clinical symptoms suggest ARPKD, assuming that a large deletion can be found on the other allele. In rare cases, however, even the combination of genetic testing methods fails to identify a mutation, which the possibility of intron mutations or discrepancy in promoter genes can explain.

The occurrence of TSC2-PKD1-contiguous gene deletion syndrome is rare, and sometimes it is difficult to distinguish the syndrome from cases of tuberous sclerosis or ADPKD (e.g. in atypical case, only with the initial presence of polycystic kidneys and the absence of typical tuberous sclerosis symptoms). However, in the case of early appearing, and in number and size rapidly growing kidney cysts (>10 cysts before the age of 3, their diameter exceeds 2 cm) or in the presence of tuberous sclerosis criteria symptoms, targeted genetic testing is recommended. The MLPA testing or next-generation sequencing of the TSC2 and PKD1 genes is recommended to map large deletions. The extension of the genetic examination is recommended in the case

of atypical TSC2-PKD1-contiguous gene syndrome, especially if early or recurrent malignant tumors develop in the patient. The early genetic testing is justified by the fact that the positive result largely determines the follow-up strategy of the pediatric nephrologist: more frequent imaging and laboratory tests, and routine blood pressure control are necessary due to the increased progression and knowledge of the exact genetic diagnosis can also influence possible therapeutic considerations. Furthermore, the affected families have the right to know about the risk of early (even in the second decade of life) occurring end-stage kidney failure.

7 IRODALOMJEGYZÉK

7.1 ELŐZŐ FEJEZETEK BEN HIVATKOZOTT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

1. Torra, R., et al., *Genetic kidney diseases as an underrecognized cause of chronic kidney disease: the key role of international registry reports*. Clin Kidney J, 2021. **14**(8): p. 1879-1885.
2. Wuhl, E., et al., *Renal replacement therapy for rare diseases affecting the kidney: an analysis of the ERA-EDTA Registry*. Nephrol Dial Transplant, 2014. **29 Suppl 4**: p. iv1-8.
3. Devuyst, O., et al., *Rare inherited kidney diseases: challenges, opportunities, and perspectives*. Lancet, 2014. **383**(9931): p. 1844-59.
4. Vivante, A. and F. Hildebrandt, *Exploring the genetic basis of early-onset chronic kidney disease*. Nat Rev Nephrol, 2016. **12**(3): p. 133-46.
5. Sweeney, W.E., Jr. and E.D. Avner, *Molecular and cellular pathophysiology of autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD)*. Cell Tissue Res, 2006. **326**(3): p. 671-85.
6. McConnachie, D.J., J.L. Stow, and A.J. Mallett, *Ciliopathies and the Kidney: A Review*. Am J Kidney Dis, 2021. **77**(3): p. 410-419.
7. Lehtreck, K.F., *IFT-Cargo Interactions and Protein Transport in Cilia*. Trends Biochem Sci, 2015. **40**(12): p. 765-778.
8. Berbari, N.F., et al., *The primary cilium as a complex signaling center*. Curr Biol, 2009. **19**(13): p. R526-35.
9. Hildebrandt, F., T. Benzing, and N. Katsanis, *Ciliopathies*. N Engl J Med, 2011. **364**(16): p. 1533-43.
10. Bacallao, R.L. and H. McNeill, *Cystic kidney diseases and planar cell polarity signaling*. Clin Genet, 2009. **75**(2): p. 107-17.
11. Ong, A.C. and P.C. Harris, *A polycystin-centric view of cyst formation and disease: the polycystins revisited*. Kidney Int, 2015. **88**(4): p. 699-710.
12. Harms, J.C., C.J. Song, and M. Mrug, *The Role of Inflammation and Fibrosis in Cystic Kidney Disease*, in *Polycystic Kidney Disease: Translating Mechanisms into Therapy*, J.B.D. Cowley and J.J. Bissler, Editors. 2018, Springer New York: New York, NY. p. 111-129.
13. Chapin, H.C. and M.J. Caplan, *The cell biology of polycystic kidney disease*. J Cell Biol, 2010. **191**(4): p. 701-10.
14. Bergmann, C., et al., *Polycystic kidney disease*. Nat Rev Dis Primers, 2018. **4**(1): p. 50.
15. Bergmann, C., *Genetics of Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease and Its Differential Diagnoses*. Front Pediatr, 2017. **5**: p. 221.

16. Lu, H., et al., *Mutations in DZIP1L, which encodes a ciliary-transition-zone protein, cause autosomal recessive polycystic kidney disease*. Nat Genet, 2017. **49**(7): p. 1025-1034.
17. Cabezas, O.R., et al., *Polycystic Kidney Disease with Hyperinsulinemic Hypoglycemia Caused by a Promoter Mutation in Phosphomannomutase 2*. J Am Soc Nephrol, 2017. **28**(8): p. 2529-2539.
18. Onuchic, L.F., et al., *PKHD1, the polycystic kidney and hepatic disease 1 gene, encodes a novel large protein containing multiple immunoglobulin-like plexin-transcription-factor domains and parallel beta-helix 1 repeats*. Am J Hum Genet, 2002. **70**(5): p. 1305-17.
19. Ward, C.J., et al., *The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein*. Nat Genet, 2002. **30**(3): p. 259-69.
20. Ward, C.J., et al., *Cellular and subcellular localization of the ARPKD protein; fibrocystin is expressed on primary cilia*. Hum Mol Genet, 2003. **12**(20): p. 2703-10.
21. Hiesberger, T., et al., *Proteolytic cleavage and nuclear translocation of fibrocystin is regulated by intracellular Ca²⁺ and activation of protein kinase C*. J Biol Chem, 2006. **281**(45): p. 34357-64.
22. Kaimori, J.Y., et al., *Polyductin undergoes notch-like processing and regulated release from primary cilia*. Hum Mol Genet, 2007. **16**(8): p. 942-56.
23. Wang, S., et al., *The cytoplasmic tail of FPC antagonizes the full-length protein in the regulation of mTOR pathway*. PLoS One, 2014. **9**(5): p. e95630.
24. Nagano, J., et al., *Fibrocystin interacts with CAML, a protein involved in Ca²⁺ signaling*. Biochem Biophys Res Commun, 2005. **338**(2): p. 880-9.
25. Yamaguchi, T., et al., *Calcium restores a normal proliferation phenotype in human polycystic kidney disease epithelial cells*. J Am Soc Nephrol, 2006. **17**(1): p. 178-87.
26. Wu, M. and S. Yu, *New Insights into the Molecular Mechanisms Targeting Tubular Channels/Transporters in PKD Development*. Kidney Dis (Basel), 2016. **2**(3): p. 128-135.
27. Siroky, B.J., et al., *Loss of primary cilia results in deregulated and unabated apical calcium entry in ARPKD collecting duct cells*. Am J Physiol Renal Physiol, 2006. **290**(6): p. F1320-8.
28. Bergmann, C., et al., *Spectrum of mutations in the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD/PKHD1)*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(1): p. 76-89.
29. Sweeney, W.E. and E.D. Avner, *Polycystic Kidney Disease, Autosomal Recessive*, in *GeneReviews*(®), M.P. Adam, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle

Copyright © 1993-2023, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).

30. Solazzo, A., et al., *The prevalence of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): A meta-analysis of European literature and prevalence evaluation in the Italian province of Modena suggest that ADPKD is a rare and underdiagnosed condition*. PLoS One, 2018. **13**(1): p. e0190430.
31. Qian, F., et al., *The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type I*. Cell, 1996. **87**(6): p. 979-87.
32. Watnick, T., et al., *Mutations of PKD1 in ADPKD2 cysts suggest a pathogenic effect of trans-heterozygous mutations*. Nat Genet, 2000. **25**(2): p. 143-4.
33. Pei, Y., et al., *Somatic PKD2 mutations in individual kidney and liver cysts support a "two-hit" model of cystogenesis in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease*. J Am Soc Nephrol, 1999. **10**(7): p. 1524-9.
34. Lantinga-van Leeuwen, I.S., et al., *Lowering of Pkd1 expression is sufficient to cause polycystic kidney disease*. Hum Mol Genet, 2004. **13**(24): p. 3069-77.
35. Hopp, K., et al., *Functional polycystin-1 dosage governs autosomal dominant polycystic kidney disease severity*. J Clin Invest, 2012. **122**(11): p. 4257-73.
36. Cornec-Le Gall, E., et al., *Type of PKD1 mutation influences renal outcome in ADPKD*. J Am Soc Nephrol, 2013. **24**(6): p. 1006-13.

37. Gabow, P.A., et al., *Renal structure and hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease*. *Kidney Int*, 1990. **38**(6): p. 1177-80.
38. Porath, B., et al., *Mutations in GANAB, Encoding the Glucosidase IIalpha Subunit, Cause Autosomal-Dominant Polycystic Kidney and Liver Disease*. *Am J Hum Genet*, 2016. **98**(6): p. 1193-1207.
39. Cornec-Le Gall, E., V.E. Torres, and P.C. Harris, *Genetic Complexity of Autosomal Dominant Polycystic Kidney and Liver Diseases*. *J Am Soc Nephrol*, 2018. **29**(1): p. 13-23.
40. Delbarba, E., et al., *Expanding the variability of the ADPKD-GANAB clinical phenotype in a family of Italian ancestry*. *J Nephrol*, 2022. **35**(2): p. 645-652.
41. Cornec-Le Gall, E., et al., *Monoallelic Mutations to DNAJB11 Cause Atypical Autosomal-Dominant Polycystic Kidney Disease*. *Am J Hum Genet*, 2018. **102**(5): p. 832-844.
42. König, J., et al., *Phenotypic Spectrum of Children with Nephronophthisis and Related Ciliopathies*. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017. **12**(12): p. 1974-1983.
43. Luo, F. and Y.H. Tao, *Nephronophthisis: A review of genotype-phenotype correlation*. *Nephrology (Carlton)*, 2018. **23**(10): p. 904-911.
44. Srivastava, S., et al., *Many Genes-One Disease? Genetics of Nephronophthisis (NPHP) and NPHP-Associated Disorders*. *Front Pediatr*, 2017. **5**: p. 287.
45. Salomon, R., S. Saunier, and P. Niaudet, *Nephronophthisis*. *Pediatr Nephrol*, 2009. **24**(12): p. 2333-44.
46. Barker, A.R., R. Thomas, and H.R. Dawe, *Meckel-Gruber syndrome and the role of primary cilia in kidney, skeleton, and central nervous system development*. *Organogenesis*, 2014. **10**(1): p. 96-107.
47. Gunay-Aygun, M., *Liver and kidney disease in ciliopathies*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2009. **151C**(4): p. 296-306.
48. Hildebrandt, F., et al., *Molecular genetic identification of families with juvenile nephronophthisis type 1: rate of progression to renal failure*. *APN Study Group. Arbeitsgemeinschaft fur Padiatrische Nephrologie. Kidney Int*, 1997. **51**(1): p. 261-9.
49. Hildebrandt, F., et al., *A novel gene encoding an SH3 domain protein is mutated in nephronophthisis type 1*. *Nat Genet*, 1997. **17**(2): p. 149-53.
50. Tory, K., et al., *Mutations of NPHP2 and NPHP3 in infantile nephronophthisis*. *Kidney Int*, 2009. **75**(8): p. 839-47.
51. Otto, E.A., et al., *Hypomorphic mutations in meckelin (MKS3/TMEM67) cause nephronophthisis with liver fibrosis (NPHP11)*. *J Med Genet*, 2009. **46**(10): p. 663-70.
52. Failler, M., et al., *Mutations of CEP83 cause infantile nephronophthisis and intellectual disability*. *Am J Hum Genet*, 2014. **94**(6): p. 905-14.
53. Otto, E.A., et al., *Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination*. *Nat Genet*, 2003. **34**(4): p. 413-20.
54. Otto, E.A., et al., *NEK8 mutations affect ciliary and centrosomal localization and may cause nephronophthisis*. *J Am Soc Nephrol*, 2008. **19**(3): p. 587-92.
55. Bakkaloglu, S.A., et al., *Diverse phenotypic expression of NPHP4 mutations in four siblings*. *Turk J Pediatr*, 2014. **56**(4): p. 423-6.
56. Otto, E.A., et al., *Nephrocystin-5, a ciliary IQ domain protein, is mutated in Senior-Loken syndrome and interacts with RPGR and calmodulin*. *Nat Genet*, 2005. **37**(3): p. 282-8.
57. Eckardt, K.U., et al., *Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease: diagnosis, classification, and management--A KDIGO consensus report*. *Kidney Int*, 2015. **88**(4): p. 676-83.
58. Ferre, S. and P. Igarashi, *New insights into the role of HNF-1beta in kidney (patho)physiology*. *Pediatr Nephrol*, 2018.
59. Bleyer, A.J., et al., *Variable clinical presentation of an MUC1 mutation causing medullary cystic kidney disease type 1*. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014. **9**(3): p. 527-35.

60. Bollee, G., et al., *Phenotype and outcome in hereditary tubulointerstitial nephritis secondary to UMOD mutations*. Clin J Am Soc Nephrol, 2011. **6**(10): p. 2429-38.
61. Faguer, S., et al., *Diagnosis, management, and prognosis of HNF1B nephropathy in adulthood*. Kidney Int, 2011. **80**(7): p. 768-76.
62. Gresh, L., et al., *A transcriptional network in polycystic kidney disease*. EMBO J, 2004. **23**(7): p. 1657-68.
63. Lokmane, L., et al., *vHNF1 functions in distinct regulatory circuits to control ureteric bud branching and early nephrogenesis*. Development, 2010. **137**(2): p. 347-57.
64. Kaminski, M.M., et al., *Direct reprogramming of fibroblasts into renal tubular epithelial cells by defined transcription factors*. Nat Cell Biol, 2016. **18**(12): p. 1269-1280.
65. van der Made, C.I., et al., *Hypomagnesemia as First Clinical Manifestation of ADTKD-HNF1B: A Case Series and Literature Review*. Am J Nephrol, 2015. **42**(1): p. 85-90.
66. Heidet, L., et al., *Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases*. Clin J Am Soc Nephrol, 2010. **5**(6): p. 1079-90.
67. Thomas, R., et al., *HNF1B and PAX2 mutations are a common cause of renal hypodysplasia in the CKiD cohort*. Pediatr Nephrol, 2011. **26**(6): p. 897-903.
68. Westland, R., et al., *Copy number variation analysis identifies novel CAKUT candidate genes in children with a solitary functioning kidney*. Kidney Int, 2015. **88**(6): p. 1402-1410.
69. Trimarchi, H., et al., *Mucin-1 Gene Mutation and the Kidney: The Link between Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease and Focal and Segmental Glomerulosclerosis*. Case Rep Nephrol, 2018. **2018**: p. 9514917.
70. Bleyer, A.J. and S. Knoch, *Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease: of names and genes*. Kidney Int, 2014. **86**(3): p. 459-61.
71. Ekici, A.B., et al., *Renal fibrosis is the common feature of autosomal dominant tubulointerstitial kidney diseases caused by mutations in mucin 1 or uromodulin*. Kidney Int, 2014. **86**(3): p. 589-99.
72. Kurt, B., et al., *Deletion of von Hippel-Lindau protein converts renin-producing cells into erythropoietin-producing cells*. J Am Soc Nephrol, 2013. **24**(3): p. 433-44.
73. Zivna, M., et al., *Dominant renin gene mutations associated with early-onset hyperuricemia, anemia, and chronic kidney failure*. Am J Hum Genet, 2009. **85**(2): p. 204-13.
74. Živná, M., et al., *Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease – REN*, in *GeneReviews*(®), M.P. Adam, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle

Copyright © 1993-2023, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).

75. Henske, E.P., et al., *Loss of heterozygosity in the tuberous sclerosis (TSC2) region of chromosome band 16p13 occurs in sporadic as well as TSC-associated renal angiomyolipomas*. Genes Chromosomes Cancer, 1995. **13**(4): p. 295-8.
76. Nair, N., et al., *Renal Manifestations of Tuberous Sclerosis Complex*. J Kidney Cancer VHL, 2020. **7**(3): p. 5-19.
77. Tucker, T. and J.M. Friedman, *Pathogenesis of hereditary tumors: beyond the "two-hit" hypothesis*. Clin Genet, 2002. **62**(5): p. 345-57.
78. Wataya-Kaneda, M., *Mammalian target of rapamycin and tuberous sclerosis complex*. J Dermatol Sci, 2015. **79**(2): p. 93-100.
79. Crino, P.B., *The mTOR signalling cascade: paving new roads to cure neurological disease*. Nat Rev Neurol, 2016. **12**(7): p. 379-92.
80. Kim, D.H., et al., *mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery*. Cell, 2002. **110**(2): p. 163-75.
81. Oshiro, N., et al., *The proline-rich Akt substrate of 40 kDa (PRAS40) is a physiological substrate of mammalian target of rapamycin complex 1*. J Biol Chem, 2007. **282**(28): p. 20329-39.

82. Rosner, M., et al., *The mTOR pathway and its role in human genetic diseases*. Mutat Res, 2008. **659**(3): p. 284-92.
83. Kaizuka, T., et al., *Tti1 and Tel2 are critical factors in mammalian target of rapamycin complex assembly*. J Biol Chem, 2010. **285**(26): p. 20109-16.
84. Manning, B.D. and L.C. Cantley, *AKT/PKB signaling: navigating downstream*. Cell, 2007. **129**(7): p. 1261-74.
85. Huang, J., et al., *The TSC1-TSC2 complex is required for proper activation of mTOR complex 2*. Mol Cell Biol, 2008. **28**(12): p. 4104-15.
86. Moloney, P.B., G.L. Cavalleri, and N. Delanty, *Epilepsy in the mTORopathies: opportunities for precision medicine*. Brain Commun, 2021. **3**(4): p. fcab222.
87. Henske, E.P., et al., *Tuberous sclerosis complex*. Nat Rev Dis Primers, 2016. **2**: p. 16035.
88. de Vries, P.J., et al., *Tuberous sclerosis associated neuropsychiatric disorders (TAND) and the TAND Checklist*. Pediatr Neurol, 2015. **52**(1): p. 25-35.
89. Henske, E.P. and F.X. McCormack, *Lymphangi leiomyomatosis - a wolf in sheep's clothing*. J Clin Invest, 2012. **122**(11): p. 3807-16.
90. Malaga-Dieguez, L., et al., *Early manifestations of renal disease in patients with tuberous sclerosis complex*. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2017. **10**: p. 91-95.
91. Krueger, D.A., H. Northrup, and G. International Tuberous Sclerosis Complex Consensus, *Tuberous sclerosis complex surveillance and management: recommendations of the 2012 International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference*. Pediatr Neurol, 2013. **49**(4): p. 255-65.
92. Kingswood, C., et al., *The clinical profile of tuberous sclerosis complex (TSC) in the United Kingdom: A retrospective cohort study in the Clinical Practice Research Datalink (CPRD)*. Eur J Paediatr Neurol, 2016. **20**(2): p. 296-308.
93. Li, S., et al., *Genotype-phenotype correlation of patients with tuberous sclerosis complex-associated renal angiomyolipoma: a descriptive study*. Hum Pathol, 2018. **82**: p. 61-67.
94. Casper, K.A., et al., *Tuberous sclerosis complex: renal imaging findings*. Radiology, 2002. **225**(2): p. 451-6.
95. Gimpel, C., et al., *Imaging of Kidney Cysts and Cystic Kidney Diseases in Children: An International Working Group Consensus Statement*. Radiology, 2019. **290**(3): p. 769-782.
96. Dhakal, M., O.P. Dhakal, and D. Bhandari, *Polycystic kidney disease and chronic renal failure in tuberous sclerosis*. BMJ Case Rep, 2013. **2013**.
97. Rijal, J.P., et al., *Tuberous sclerosis complex with autosomal dominant polycystic kidney disease: a rare duo*. BMJ Case Rep, 2014. **2014**.
98. Osumi, K., et al., *Molecular diagnosis of an infant with TSC2/PKD1 contiguous gene syndrome*. Hum Genome Var, 2020. **7**: p. 21.
99. Shillingford, J.M., et al., *The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(14): p. 5466-71.
100. Kleymenova, E., et al., *Tuberin-dependent membrane localization of polycystin-1: a functional link between polycystic kidney disease and the TSC2 tumor suppressor gene*. Mol Cell, 2001. **7**(4): p. 823-32.
101. Distefano, G., et al., *Polycystin-1 regulates extracellular signal-regulated kinase-dependent phosphorylation of tuberin to control cell size through mTOR and its downstream effectors S6K and 4EBP1*. Mol Cell Biol, 2009. **29**(9): p. 2359-71.
102. Weimbs, T., *Regulation of mTOR by polycystin-1: is polycystic kidney disease a case of futile repair?* Cell Cycle, 2006. **5**(21): p. 2425-9.
103. Zhu, H., et al., *PCR past, present and future*. Biotechniques, 2020. **69**(4): p. 317-325.
104. Green, M.R. and J. Sambrook, *The Basic Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Cold Spring Harb Protoc, 2018. **2018**(5).
105. Hawkins, S.F.C. and P.C. Guest, *Multiplex Analyses Using Real-Time Quantitative PCR*. Methods Mol Biol, 2017. **1546**: p. 125-133.

106. Ganova, M., et al., *Multiplexed digital polymerase chain reaction as a powerful diagnostic tool*. Biosens Bioelectron, 2021. **181**: p. 113155.
107. Garrido-Cardenas, J.A., et al., *DNA Sequencing Sensors: An Overview*. Sensors (Basel), 2017. **17**(3).
108. Stuppia, L., et al., *Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases*. Int J Mol Sci, 2012. **13**(3): p. 3245-3276.
109. Muzzey, D., E.A. Evans, and C. Lieber, *Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling*. Curr Genet Med Rep, 2015. **3**(4): p. 158-165.
110. Buermans, H.P. and J.T. den Dunnen, *Next generation sequencing technology: Advances and applications*. Biochim Biophys Acta, 2014. **1842**(10): p. 1932-1941.
111. Losekoot, M., et al., *Analysis of missense variants in the PKHD1-gene in patients with autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD)*. Hum Genet, 2005. **118**(2): p. 185-206.
112. Bellanne-Chantelot, C., et al., *Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) gene are the most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5*. Diabetes, 2005. **54**(11): p. 3126-32.
113. Javorszky, E., et al., *QMPSF is sensitive and specific in the detection of NPHP1 heterozygous deletions*. Clin Chem Lab Med, 2017. **55**(6): p. 809-816.
114. Orosz, O., et al., *Myopia and Late-Onset Progressive Cone Dystrophy Associate to LVAVA/MVAVA Exon 3 Interchange Haplotypes of Opsin Genes on Chromosome X*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017. **58**(3): p. 1834-1842.
115. Denamur, E., et al., *Genotype-phenotype correlations in fetuses and neonates with autosomal recessive polycystic kidney disease*. Kidney Int, 2010. **77**(4): p. 350-8.
116. Bergmann, C., et al., *Clinical consequences of PKHD1 mutations in 164 patients with autosomal-recessive polycystic kidney disease (ARPKD)*. Kidney Int, 2005. **67**(3): p. 829-48.
117. Bergmann, C., et al., *Multi-exon deletions of the PKHD1 gene cause autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD)*. J Med Genet, 2005. **42**(10): p. e63.
118. Krall, P., et al., *Cost-effective PKHD1 genetic testing for autosomal recessive polycystic kidney disease*. Pediatr Nephrol, 2014. **29**(2): p. 223-34.
119. Obeidova, L., et al., *Molecular genetic analysis of PKHD1 by next-generation sequencing in Czech families with autosomal recessive polycystic kidney disease*. BMC Med Genet, 2015. **16**: p. 116.
120. Sharp, A.M., et al., *Comprehensive genomic analysis of PKHD1 mutations in ARPKD cohorts*. J Med Genet, 2005. **42**(4): p. 336-49.
121. Gunay-Aygun, M., et al., *PKHD1 sequence variations in 78 children and adults with autosomal recessive polycystic kidney disease and congenital hepatic fibrosis*. Mol Genet Metab, 2010. **99**(2): p. 160-73.
122. Miyazaki, J., et al., *Intragenic duplication in the PKHD1 gene in autosomal recessive polycystic kidney disease*. BMC Med Genet, 2015. **16**: p. 98.
123. Burgmaier, K., et al., *Early childhood height-adjusted total kidney volume as a risk marker of kidney survival in ARPKD*. Sci Rep, 2021. **11**(1): p. 21677.
124. Guay-Woodford, L.M., et al., *Consensus expert recommendations for the diagnosis and management of autosomal recessive polycystic kidney disease: report of an international conference*. J Pediatr, 2014. **165**(3): p. 611-7.
125. Guay-Woodford, L.M. and R.A. Desmond, *Autosomal recessive polycystic kidney disease: the clinical experience in North America*. Pediatrics, 2003. **111**(5 Pt 1): p. 1072-80.
126. Dell, K.M., *The spectrum of polycystic kidney disease in children*. Adv Chronic Kidney Dis, 2011. **18**(5): p. 339-47.
127. Zerres, K., et al., *Autosomal recessive polycystic kidney disease in 115 children: clinical presentation, course and influence of gender*. Arbeitsgemeinschaft fur Padiatrische, Nephrologie. Acta Paediatr, 1996. **85**(4): p. 437-45.

128. Lucchetti, L., et al., *Autosomal dominant and autosomal recessive polycystic kidney disease: hypertension and secondary cardiovascular effect in children*. Front Mol Biosci, 2023. **10**: p. 1112727.
129. Capisonda, R., et al., *Autosomal recessive polycystic kidney disease: outcomes from a single-center experience*. Pediatr Nephrol, 2003. **18**(2): p. 119-26.
130. Wicher, D., L. Obrycki, and I. Jankowska, *Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease-The Clinical Aspects and Diagnostic Challenges*. J Pediatr Genet, 2021. **10**(1): p. 1-8.
131. Furu, L., et al., *Milder presentation of recessive polycystic kidney disease requires presence of amino acid substitution mutations*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(8): p. 2004-14.
132. Rossetti, S., et al., *A complete mutation screen of PKHD1 in autosomal-recessive polycystic kidney disease (ARPKD) pedigrees*. Kidney Int, 2003. **64**(2): p. 391-403.
133. Follit, J.A., et al., *The cytoplasmic tail of fibrocystin contains a ciliary targeting sequence*. J Cell Biol, 2010. **188**(1): p. 21-8.
134. Outeda, P., et al., *A novel model of autosomal recessive polycystic kidney questions the role of the fibrocystin C-terminus in disease mechanism*. Kidney Int, 2017. **92**(5): p. 1130-1144.
135. Burgmaier, K., et al., *Refining genotype-phenotype correlations in 304 patients with autosomal recessive polycystic kidney disease and PKHD1 gene variants*. Kidney Int, 2021. **100**(3): p. 650-659.
136. Hartung, E.A. and L.M. Guay-Woodford, *Autosomal recessive polycystic kidney disease: a hepatorenal fibrocystic disorder with pleiotropic effects*. Pediatrics, 2014. **134**(3): p. e833-45.
137. Fon Gabrscek, A., et al., *Clinical characteristics of Slovenian pediatric patients with autosomal recessive polycystic kidney disease*. Clin Nephrol, 2021. **96**(1): p. 56-61.
138. Jahnukainen, T., et al., *Long-term pulmonary function in children with recessive polycystic kidney disease*. Arch Dis Child, 2015. **100**(10): p. 944-7.
139. Brook-Carter, P.T., et al., *Deletion of the TSC2 and PKD1 genes associated with severe infantile polycystic kidney disease--a contiguous gene syndrome*. Nat Genet, 1994. **8**(4): p. 328-32.
140. Bissler, J.J., et al., *Everolimus for angiomyolipoma associated with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangioleiomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial*. The Lancet, 2013. **381**(9869): p. 817-824.
141. Siroky, B.J., et al., *Improvement in Renal Cystic Disease of Tuberous Sclerosis Complex After Treatment with Mammalian Target of Rapamycin Inhibitor*. J Pediatr, 2017. **187**: p. 318-322 e2.
142. Krueger, D.A., et al., *Short-term safety of mTOR inhibitors in infants and very young children with tuberous sclerosis complex (TSC): Multicentre clinical experience*. Eur J Paediatr Neurol, 2018. **22**(6): p. 1066-1073.
143. Walz, G., et al., *Everolimus in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease*. N Engl J Med, 2010. **363**(9): p. 830-40.
144. Hartman, T.R., et al., *The tuberous sclerosis proteins regulate formation of the primary cilium via a rapamycin-insensitive and polycystin 1-independent pathway*. Hum Mol Genet, 2009. **18**(1): p. 151-63.
145. Chen, Y. and X. Zhou, *Research progress of mTOR inhibitors*. Eur J Med Chem, 2020. **208**: p. 112820.
146. Cadnapaphornchai, M.A., et al., *Increased left ventricular mass in children with autosomal dominant polycystic kidney disease and borderline hypertension*. Kidney Int, 2008. **74**(9): p. 1192-6.
147. Seeman, T., et al., *Ambulatory blood pressure correlates with renal volume and number of renal cysts in children with autosomal dominant polycystic kidney disease*. Blood Press Monit, 2003. **8**(3): p. 107-10.
148. Massella, L., et al., *Prevalence of Hypertension in Children with Early-Stage ADPKD*. Clin J Am Soc Nephrol, 2018. **13**(6): p. 874-883.

149. Marlais, M., et al., *Hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease: a meta-analysis*. Arch Dis Child, 2016. **101**(12): p. 1142-1147.
150. Pirson, Y., D. Chauveau, and V. Torres, *Management of cerebral aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease*. J Am Soc Nephrol, 2002. **13**(1): p. 269-276.
151. Chen, Y.L., et al., *Tuberous sclerosis complex with an unruptured intracranial aneurysm: manifestations of contiguous gene syndrome*. Interv Neuroradiol, 2001. **7**(4): p. 337-41.
152. Hogan, M.C., et al., *Liver involvement in early autosomal-dominant polycystic kidney disease*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015. **13**(1): p. 155-64 e6.
153. Yang, P., et al., *Renal cell carcinoma in tuberous sclerosis complex*. Am J Surg Pathol, 2014. **38**(7): p. 895-909.
154. T Al-Saleem, L.L.W., B W Scheithauer, K Patterson, E S Roach, S J Dreyer, K Fujikawa, J Bjornsson, J Bernstein, E P Henske, *Malignant tumors of the kidney, brain, and soft tissues in children and young adults with the tuberous sclerosis complex*. Cancer, 1998. **83**(10): p. 2208-16.
155. Subbiah, V., et al., *Morphoproteomic profiling of the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in desmoplastic small round cell tumor (EWS/WT1), Ewing's sarcoma (EWS/FLI1) and Wilms' tumor(WT1)*. PLoS One, 2013. **8**(7): p. e68985.
156. Na, K.Y., et al., *Multifocal renal cell carcinoma of different histological subtypes in autosomal dominant polycystic kidney disease*. Korean J Pathol, 2012. **46**(4): p. 382-6.
157. Das, L., V.G. Quintana, and J.B. Sweasy, *NTHL1 in genomic integrity, aging and cancer*. DNA Repair (Amst), 2020. **93**: p. 102920.
158. Meguro, S., et al., *Concurrent Reduced Expression of Contiguous PKD1, TSC2 and NTHL1 Leading to Kidney Diseases and Multiple Diverse Renal Cancers*. Cancer Genomics Proteomics, 2023. **20**(1): p. 40-50.
159. Lanktree, M.B., et al., *Evolving role of genetic testing for the clinical management of autosomal dominant polycystic kidney disease*. Nephrol Dial Transplant, 2019. **34**(9): p. 1453-1460.
160. Huang, E., et al., *DNA testing for live kidney donors at risk for autosomal dominant polycystic kidney disease*. Transplantation, 2009. **87**(1): p. 133-7.
161. Rossetti, S., et al., *Mutation analysis of the entire PKD1 gene: genetic and diagnostic implications*. Am J Hum Genet, 2001. **68**(1): p. 46-63.
162. Bergmann, C., *Recent advances in the molecular diagnosis of polycystic kidney disease*. Expert Rev Mol Diagn, 2017. **17**(12): p. 1037-1054.
163. Gimpel, C., et al., *International consensus statement on the diagnosis and management of autosomal dominant polycystic kidney disease in children and young people*. Nat Rev Nephrol, 2019. **15**(11): p. 713-726.
164. Bergmann, C., et al., *Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease*. J Am Soc Nephrol, 2011. **22**(11): p. 2047-56.
165. Becker, T., et al., *Paediatric kidney transplantation in small children-- a single centre experience*. Transpl Int, 2006. **19**(3): p. 197-202.
166. Harris, P.C. and S. Rossetti, *Molecular diagnostics for autosomal dominant polycystic kidney disease*. Nat Rev Nephrol, 2010. **6**(4): p. 197-206.
167. Rossetti, S., et al., *The position of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene mutation correlates with the severity of renal disease*. J Am Soc Nephrol, 2002. **13**(5): p. 1230-7.
168. Edwards, M.E., et al., *Long-Term Administration of Tolvaptan in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease*. Clin J Am Soc Nephrol, 2018. **13**(8): p. 1153-1161.
169. Torres, V.E., et al., *Tolvaptan in Later-Stage Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease*. N Engl J Med, 2017. **377**(20): p. 1930-1942.
170. Torres, V.E., et al., *Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease*. N Engl J Med, 2012. **367**(25): p. 2407-18.
171. Liu, F., et al., *Tolvaptan in Pediatric Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: From Here to Where?* Kidney Dis (Basel), 2021. **7**(5): p. 343-349.

172. Delbet, J.D., C. Parmentier, and T. Ulinski, *Tolvaptan therapy to treat severe hyponatremia in pediatric nephrotic syndrome*. *Pediatr Nephrol*, 2020. **35**(7): p. 1347-1350.
173. Olalekan, K., A. Fox, and R. Gilbert, *Tolvaptan Use in Severe Neonatal Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (Adpkd): The Pharmaceutical Challenge*. *Arch Dis Child*, 2016. **101**(9): p. e2.
174. Kojima, T., et al., *Efficacy and safety of tolvaptan after pediatric congenital heart disease surgery*. *Heart Vessels*, 2021. **36**(5): p. 717-723.
175. Peron, A., K.S. Au, and H. Northrup, *Genetics, genomics, and genotype-phenotype correlations of TSC: Insights for clinical practice*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2018. **178**(3): p. 281-290.
176. Au, K.S., et al., *Genotype/phenotype correlation in 325 individuals referred for a diagnosis of tuberous sclerosis complex in the United States*. *Genet Med*, 2007. **9**(2): p. 88-100.
177. Shang, S., et al., *Diagnosis and genotype-phenotype correlation in patients with PKD1/TSC2 contiguous gene deletion syndrome*. *Clin Nephrol*, 2022. **97**(6): p. 328-338.

7.2 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/403/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Orosz Petronella
Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10065565

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Orosz, P.**, Kollák, Z., Pethő, Á. G., Fogarasi, A., Reusz, G., Hadzsiev, K., Szabó, T.: The Importance of Genetic Testing in the Differential Diagnosis of Atypical TSC2-PKD1 Contiguous Gene Syndrome: Case Series.
Children-Basel. 10 (3), 1-9, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/children10030420>
IF: 2.4 (2022)
2. Szabó, T., **Orosz, P.**, Balogh, E., Jávorszky, E., Mátyus, I., Bereczki, C., Maróti, Z., Kalmár, T., Szabó, A., Reusz, G., Várkonyi, I., Marián, E., Gombos, É., Orosz, O., Madar, L., Balla, G., Kappelmayer, J., Tory, K., Balogh, I.: Comprehensive genetic testing in children with a clinical diagnosis of ARPKD identifies phenocopies.
Pediatr. Nephrol. 33 (10), 1713-1721, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-018-3992-5>
IF: 2.816

További közlemények

3. Pethő, Á. G., Tapolyai, M., Browne, M., Fülöp, T., **Orosz, P.**, Szabó, R.: The importance of the nephrologist in the treatment of the diuretic resistant heart failure.
Life (Basel). 13 (6), 1-13, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/life13061328>
IF: 3.2 (2022)
4. **Orosz, P.**, Durányik, M., Biró, E., Körhegyi, I., Balogh, I., Szabó, T.: Question of Prophylactic Anticoagulation in Steroid Sensitive Nephrotic Syndrome: rare Complication in Pediatrics.
J. Pediatr. & Child Health Care. 2 (1), 1-3, 2017.
IF: 1.449





5. Bíró, E., Szikszay, E., **Orosz, P.**, Bigida, L., Balla, G., Szabó, T.: Acute interstitial nephritis in T-cell leukemia in a pediatric patient.
Pediatr. Int. 58 (9), 940-942, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ped.13029>
IF: 0.822
6. Ambrus, L., Oláh, A., Oláh, T., Balla, G., Saleem, M. A., **Orosz, P.**, Zsuga, J., Bíró, K., Csernoch, L., Bíró, T., Szabó, T.: Inhibition of TRPC6 by protein kinase C isoforms in cultured human podocytes.
J. Cell. Mol. Med. 19 (12), 2771-2779, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.12660>
IF: 4.938

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,625

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
5,216**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.09.01.



8 TÁRGYSZAVAK

Tárgyszavak: célzott genetikai vizsgálat, ARPKD, TSC, ADPKD, folyamatos géndeléciós szindróma, fenokópia, kópiaszám változás, NTHL1 gén

Key words: targeted genetic testing, ARPKD, TSC, ADPKD, contiguous gene deletion syndrome, phenocopy, copy number variation, NTHL1 gene

9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom a Laki Kálmán Doktori Iskola vezetésének, és különösen Dr. Balla György és Dr. Balla József professzor uraknak, hogy a tudományos munkám és szakmai fejlődésem kiteljesedéseként lehetőséget kaptam a doktori képzésben való részvételre, továbbá a képzés során történő szellemi gyarapodásra.

A gyermeknefrológia megkedveltetéséért, az iránymutatásért, a doktori munkám során kapott eredmények értékelésében nyújtott áttekinthető, értelmező útmutatásáért, a képzésem során történő maximális támogatásért kiemelt köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Szabó Tamás tanár úrnak.

A hosszú évek alatt folytatott doktori munkám során a genetikai vizsgálómódszerek hatalmas fejlődésen mentek keresztül, melyek megismeréséért köszönetemet fejezem ki Dr. Hadzsiev Kinga tanárnőnek, valamint Dr. Tory Kálmán tanár úrnak és Dr. Balogh István professzor úrnak. Továbbá a genetikai vizsgálatokat végző laboratóriumok munkatársainak segítségéért is köszönetet szeretnék mondani.

Hálával tartozom a doktori munkám alapjául szolgáló közleményeim társszerzőinek, hogy a ritka betegségekkel élő pácienseik adatait rendelkezésemre bocsátották.

Köszönöm az egykori és jelenlegi kollégáimnak, hogy lehetőséget és időt biztosítottak számomra a doktori munka elvégzéséhez. Külön kiemelném Dr. Fogarasi András professzor urat és Dr. Kollák Zita főorvosnőt, akik szívükön viselték a doktori fokozat megszerzését.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm a rengeteg biztató szót, támogatást, bátorítást, sokszor adott új lendületet, a végtelen türelmet a családomnak, és külön is ezerszer megköszönöm a szeretettel adott szakmai kritikát, segítséget a férjemnek, Dr. Pethő Ákos adjunktus úrnak.

10 FÜGGELÉK
