

Szerző: V. Oláh Anna dr., Koczok Katalin dr.¹ P. Szabó Gabriella dr.² Varga József dr.,³ Balogh István dr.⁴ Harangi János dr.⁵

¹Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Laboratóriumi Medicina Intézet

²Gyermekegyógyászati Intézet;

³Nukleáris Medicina Intézet

⁴Klinikai Genetikai Tanszék

⁵RLC-H Kromatográfiás Kutató-fejlesztő Laboratórium, Debrecen

A veleszületett koleszterinhiány jellemző biomarkerei Smith–Lemli–Opitz-szindrómás betegekben és hordozókban

Háttér: A Smith–Lemli–Opitz-szindróma (SLOS) egy súlyos szomatomentális retardációval járó anyagcserezavar. A betegség elsődleges oka a 7-dehidrokoleszterin-reduktáz (7DHCR) hiány miatt kialakuló alacsony koleszterinszint, ami magzati fejlődési rendellenességhez, gyakran vetéléshez vezet. A genotípus alapján nem mindig lehet a fenotípusra következtetni, ezért vizsgáltuk a biomarkerek és a betegség súlyossága közötti kapcsolatot. Az AR módon öröklődő SLOS szűréséhez lényeges lehet a 7DHC szubsztrát szintje a hordozókban.

Betegek és módszerek: Eddig 15 SLOS beteget (8 fiú, 7 lány) diagnosztizáltunk 0-18 éves korban. SLOS mutációt hordozó szülőknél gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) módszerrel vizsgáltuk a szérum 7DHC-t.

Eredmények: Az enyhe SLOS-betegek diagnóziskori életkora 0,5-18 év, koleszterin átlaga $2,4 \pm 0,8$ mmol/l, a 7DHC 147 ± 55 mg/l volt. A típusos SLOS diagnózist 0,1-7 éves korukban állítottuk fel, alacsonyabb koleszterin ($1,5 \pm 0,7$ mmol/l) és magasabb a 7DHC mellett (202 ± 77 mg/l). A súlyos SLOS betegek már újszülöttkorban meghaltak, náluk volt legalacsonyabb a koleszterin ($0,64 \pm 0,2$ mmol/l, 7DHC 180 ± 52 mg/l). Eszerint a kezdeti koleszterinszint meghatározza a klinikai súlyosságot. Prognosztikus marker az a-lipoproteinek aránya. Az ALT és AST emelkedése a 7DHC-szint csökkentésére adott statin mellékhatása lehet. GC-MS módszerrel 15 hordozóból 12 szérumában detektáltunk 0,3-5,5 mg/l 7DHC-t (referens tartomány $<0,15$ mg/l).

Következtetés: Súlyos fejlődési rendellenességeknél gondoljunk a SLOS lehetőségére is, amit az alacsony koleszterin mellett az emelkedett 7DHC-szinttel igazolhatunk. A betegség súlyossága főként a koleszterinhiánytól függ, de kezelés során figyelni kell a májfunkciós enzimekre is. A magas hordozói gyakoriság miatt sorozatos vetélésnél megfontolandó a szérum 7DHC meghatározása (pl. GC-MS), bár a hordozók egy részénél a 7DHC átfed a referens tartománnyal.

Az SLO-betegséget Smith, Lemli és Opitz írták le 1964-ben, az arcdysmorphia, microcephalia, hypospadiasis tünetei és a szomatomentális retardáció társulása alapján (1). Az SLOS sok szervet érintő, autoszomális recesszív öröklődésű súlyos anyagcserezavar, amely a 7-dehidrokoleszterin-reduktáz (7DHCR) enzim csökkent aktivitásával függ össze (2, 3, 4, 5, 6). A koleszterin szintézis utolsó lépését végző enzim csökkent aktivitása miatt felhalmozódnak a dehidrokoleszterinek (7DHC, 8DHC) és alacsony lesz a koleszterinszint (7, 8). A tünetek egyrészt azért súlyosak, mert a koleszterin fontos sejtmembrán alkotó, jelentős szerepe van a sejtek strukturájának kialakulásában. Másrészt az SLOS magzatban a felhalmozott dehidrokoleszterinek miatt olyan analóg szterolok pl. nemi hormonok képződnek, amelyek nem töltik be eredeti funkciójukat a jelátvitelben és ezzel megzavarják a sejtek differenciálódását az embrionális fejlődés során (9). Az SLOS diagnózist bizonytalanná teszi, hogy a rá jellemző jegyek, pl. arcdysmorphia, polydactylia, 2-3 lábujjak részleges összenövése (1. ábra), rendellenes genitália egyéb betegségben is előfordulnak, így a fenotípus alapján felállított diagnózis gyakran korrigálásra szorul. Lényeges megfigyelés volt, hogy a SLOS-betegek vizeletében nem detektálható epesav. Amikor Tint és Irons a vérben meghatározták ennek prekursorát, a 7DHC-t, annak magas szintje arra utalt, hogy a betegség oka a koleszterin szintézis utolsó lépését végző 7-dehidrokoleszterin-reduktáz csökkent aktivitása (8). A Kelly-féle 7DHC-meghatározás új utat nyitott a diagnosztikában, követhetővé vált a koleszterinpótlás, a statinkezelés hatása (10, 3, 9).

A humán DHCR7 gén lokalizációjának (11q12-13) megismerése óta napjainkig több mint 160 mutációt azonosítottak (2, 11, 12, 13, 14, 15, 16) (Human Gene Mutation Database). Bár az SLOS hordozóinak gyakorisága Európában ~2%, a

betegség prevalenciája ~1:50 ezer körül lehet. Az öröklődésmenete autoszomális recesszív, ha a szülők a génhiba hordozói, a születendő gyermeknek 25% esélye van SLO betegségre. Az ilyen családokban a hordozott mutációk típusától függően gyakori az ismétlődő vetélés, részben emiatt alacsony az SLOS-betegek száma.

A kilencvenes évek óta különböző terápiás javaslatok születtek az SLOS-betegekben a koleszterin pótlására epesavval, vagy anélkül. Többféle statinnal próbálták a toxikus 7DHC-szintet csökkenteni, hogy ezzel is védjék a maradék 7DHC-reduktázt, de a lipidszintek és klinikai tünetek nem igazolták a várakozásokat (7, 17, 18). Haas és Sikora azt is vitatja, mérhető-e a koleszterinpótlás pozitív hatása a mentális funkciókra (19, 20), és a mellékhatásokat figyelembe véve a statinokat nem tekintik minden betegnél biztonságos és hatásos kezelési módnak (21).

2002-ben az első szubsztrát-meghatározáson alapuló hazai SLOS diagnózist Szabó László írta le (22), és az ő kezdeményezésére vezettük be a pediátriai laboratóriumban a 7DHC-meghatározást.

Egy ilyen súlyos diagnózis felállítása után fontos kérdés, hogy milyen a beteg életkilátása. Bár a várható élethossz a magzati korban kialakult rendellenességektől függ, a gyermekgyógyásztól és a laboratóriumtól várják a prognózist és a terápia követését. Az első új hazai SLOS mutációt 2010-ben L. Kozakkal együttműködve írtuk le (1): 121–123.">(23), a második új mutációt 2013-ban publikáltuk a hazai SLOS-betegek genetikai adataival (11). Több munkacsoporthoz hasonlóan (5, 24, 25) mi sem találtunk szoros összefüggést a genotípus és fenotípus között, ezért vizsgáltuk meg néhány lipidanyagcserére jellemző biomarker (Cho, 7DHC, lipoproteinek) és a fenotípus kapcsolatát.

1. ábra Az arcdysmorphia mellett az SLOS gyermekekre jellemző a polydactilia és a 2-3. lábujjak részleges összenövése



Betegek

Az elmúlt évtizedben a Debreceni Egyetemen diagnosztizált tizenöt SLOS betegben (koruk 0-18 év, 8 fiú, 7 lány) vizsgáltuk a klinikai súlyosság és néhány biokémiai marker kapcsolatát. Az SLOS gyanú klinikai tünetek alapján merült fel, a diagnózist szérumban koleszterin, 7-dehidrokoleszterin (7DHC) és a génmutációk meghatározásával állítottuk fel. A szérumban 7DHC-t Honda (26) módosított UV spektrofotometriás módszerével, a lipoproteinek gélelektroforézissel határoztuk meg. Klinikai súlyossági pontrendszer (score) szerint a betegeket három csoportba soroltuk (9). A fenotípus jellemzésére a Kelley és Hennekam által módosított Bialer score rendszert alkalmaztuk, amely az embrionális szervfejlődési rendellenességet figyelembe veszi az agy, szájüreg, arc, szem, szív, vese, tüdő, belek, nemi szervek esetén. A koleszterin és a lipoprotein statisztikai értékelése ANOVA- (Welch) és Pairwise- (Bonferroni) teszttel, a Cho/7DHC esetén Kruskal-Wallis-tesztel történt.

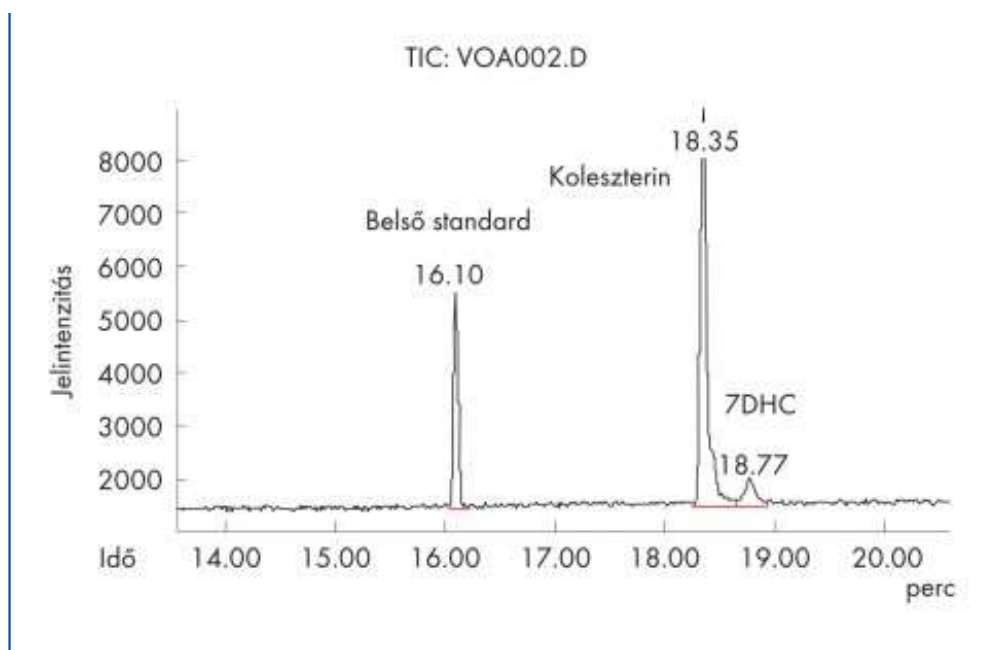
Ha a klinikai score 20 alatti, ezt enyhe SLOS fenotípusnak, 20-50 között típusos SLOS-nak, az 50 feletti score-t súlyos állapotnak tekintjük. Az enyhe SLOS-csoportba sorolt betegek kora 1-18 év (n=4) volt. A típusos SLOS-betegek 1-15

évesek voltak (n=7), ketten közülük 2 éves kor előtt meghaltak, a súlyos SLOS csecsemők 2 hónapnál rövidebb ideig éltek (n=4). A diagnózist követően a betegek koleszterinpótlást kaptak (Cholesterol Module, 50-250 mg/kg/nap, Nutricia No18.012), súlyos esetben kezdetben ezt statinkezeléssel kiegészítették (0,2-0,4 mg/kg/nap – ahogy a beteg tolerálta). A testi fejlődést és a terápia hatását 3-6 havonta ellenőrizték, szérumszinteket, 7DHC és májfunkciós vizsgálatokkal (AST, ALT, LDH, ALP, CK, GGT). Az SLOS betegek és szüleik vérmintáit tájékoztatás és beleegyező nyilatkozat után vizsgáltuk.

Biokémiai és GC-MS módszerek, statisztika

A szérumszintet a betegekénél a Honda-féle (26) módosított UV spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg, ami jól korrelált a Kelly által leírt GC/MS módszerrel (10). A betegek szérumszintjeit felhasználásig -20°C -on fagyaszttva tároltuk (~4 hét). A fotometriás 7DHC meghatározásánál 200 ml szérumszintet extraháltunk 1,6 ml c-hexán:i-propanol eleggyel (3:1). Humatrol normál szérumszintet használtunk (Human, Magdeburg, Germany) negatív kontrolként. Kalibrációhoz 200 ml negatív szérumszinthez 100 ml 7DHC oldatot adtunk (400 mg/l, c-hexán:i-propanol 3:1 eleggyben), majd 1,5 ml extrahálószerrel vortexeltük 20 sec-ig. A mintákat lefedve centrifugáltuk (1800xg, 5 perc). A felülúszók abszorbanciáját 285 nm-en mértük, és a kalibrátorhoz viszonyítottuk. Reagens vakként c-hexán:i-propanol 3:1 eleggyt (a.t., VWR) használtuk. A sorozatok közötti és a sorozaton belüli analitikai CV<10% volt. A kimutatási határ ~10 mg/l, a módszer lineáris az SLOS-ra jellemző 10-400 mg/l között. A koleszterin/7DHC arányt azonos mértékegységből számítottuk (mg/l). A szérumszint koleszterint enzimatikus módszerrel (Roche, Modular P800), a lipoproteinek arányát agaróz gélelektroforézissel határoztuk meg (Hydragel 15, Sebia, AL Instruments). A májenzimeket IFCC (AST, ALT, GGT) és optimalizált UV módszerrel (LDH, Roche Modular P800) követtük. Mivel az UV spektroszkópiás módszer nem elég érzékeny az SLOS hordozóknál a 7DHC kimutatására, a szülőknél a szterol-észterek hidrolízise után GC-MS módszert alkalmaztunk (27): 200 ml szérumszinthez 20 ml cholestan belső standardot (200 mg/l, oldva c-hexán:i-propanol 3:1), majd 0,4 ml 96%-os etanolt és 0,2 ml 50%-os Na-hidroxidot adtunk és 1 óráig 75°C -on tartottuk. A szobahőmérsékletre hűtött eleggyhez 0,5 ml desztillált vizet és 1 ml c-hexánt adtunk és vortexeltük. Az 5 perc centrifugálás után nyert felső szerves fázisból 0,8 ml-t N_2 alatt csavaros üvegben szárazra pároltunk. Injektáláshoz ezt a maradékot 100 ml diklórmétánban oldottuk. Az elemzések Hewlett-Packard gyártmányú 5890 Series II gázkromatográf – 5971A tömegspektrométeren történtek. Gázkromatográfiás paraméterek: vivőgáz: hélium 0,5 ml/perc áramlási sebességgel, injektor hőmérséklet 250°C , kolonnater hőmérséklete: 3 percig 180°C , ezt követően 10°C /perc felfűtési sebességgel 310°C -ig emelkedett a hőmérséklet, 15 perces izoterm szakasz zárta a hőmérséklet programot. Alkalmazott kolonna: HP-5MS (25 m×0,25 mm×0,25 mm). MS paraméterek: transfer line hőmérséklet 280°C , a detektálást kiválasztott ion detektálás (Selected Ion Monitoring – SIM) módszerrel végeztük; a belső standardként alkalmazott cholestan detektálását 217 tömegszámú fragmens felhasználásával és a 357 tömegszámú fragmens megerősítésével végeztük. A koleszterin kimutatása a 275 tömegszámú fragmens detektálásával és a 301 és 386 tömegszámú megerősítő fragmens felhasználásával, míg a 7DHC detektálása a 351-es fragmenssel, majd a 325 és 384 tömegszámú megerősítő fragmens mellett történt. Ezzel a módszerrel nagy biztonsággal lehetett meghatározni a célzott szterol komponensek mennyiségét az SLOS-betegekben (2. ábra) és a hordozók többségében. A koleszterin és a lipoprotein adatok statisztikai értékelése ANOVA- (Welch) és Pairwise-(Bonferroni) teszttel történt, a Cho/7DHC esetén Kruskal-Wallis-tesztet alkalmaztunk.

2. ábra A szérumszint koleszterin és 7DHC kimutatása SLOS-betegben GC-MS módszerrel



Eredmények

A betegek klinikai adatait az 1. táblázatban foglaltuk össze. Lineáris regressziós vizsgálat szerint a kezdeti koleszterinszint összefüggésben van az SLOS súlyosságával ($r=0,747$), a felhalmozott 7DHC pedig az enzimdefektus mértékével arányos, a kettőt együtt értékelve inverz kapcsolatot találtunk a Cho/7DHC és a klinikai score között ($r=0,669$), (3. ábra). (1. táblázat) A kezdeti lipidértékek átlagát – a különböző klinikai súlyosságú csoportokban – a 2. táblázat mutatja ($n=15$). (2. táblázat) A fenotípusos jegyek alapján enyhe SLOS-betegek életkora 0,5-18 év volt a diagnózis megállapításakor ($n=4$, klinikai score <20), a koleszterin átlaga $2,4\pm0,8$ mmol/l, a 7DHC 147 ± 55 mg/l volt (referens tartomány $<0,15$ mg/l). A típusos SLOS-csoport ($n=7$, klinikai score 20-50) diagnózisát 0,1-7 éves korukban állítottuk fel, náluk alacsonyabb a koleszterinszint ($1,5\pm0,7$ mmol/l) és magasabb a 7DHC (202 ± 77 mg/l). A súlyos SLOS-betegek ($n=4$, klinikai score >50) már 2 hónapos kor előtt meghaltak. Esetükben nagyon alacsony koleszterinszint ($0,64\pm0,2$ mmol/l) és magas 7DHC (180 ± 52 mg/l) volt mérhető. Szignifikáns különbség volt az enyhe és súlyos SLOS kezdeti koleszterinje ($p=0,01$) és Cho/7DHC között ($p=0,004$).

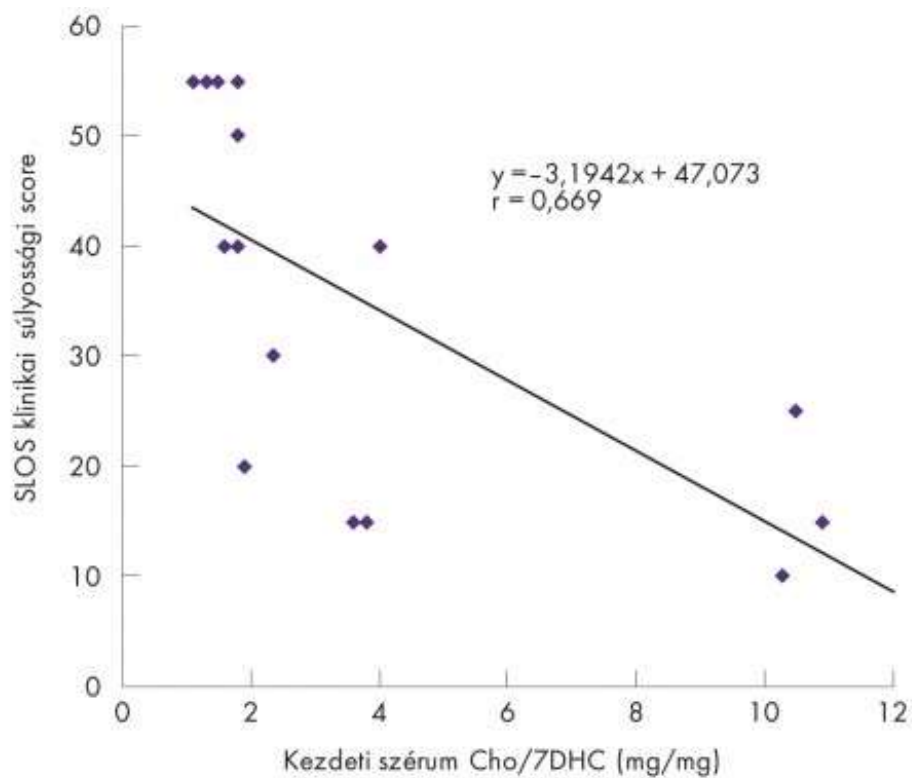
Új megfigyelés, hogy súlyos SLOS-nál a-lipoprotein (HDL-koleszterin) alig detektálható, aránya szignifikánsan kisebb, mint típusos ($p=0,003$) és enyhe SLOS-nál ($p=0,004$). Míg típusos és enyhe SLOS-betegekben az a-lipoproteinek aránya $32\pm8\%$ volt, amely az egészséges 0-3 évesekéhez ($25\pm3\%$) hasonló, az újszülöttkorban meghalt SLOS-betegekben ez csak $7\pm7\%$.

Adataink megerősítik, hogy az életminőséget, életkilátást alapvetően a koleszterinhiány mértéke határozza meg. A koleszterin mellett a Cho/7DHC és az alfa-lipoproteinek szintjét értékes kiegészítő markernek tekintjük a klasszifikáció és a várható tünetek, életkilátás szempontjából.

A terápia kezdetén a koleszterinpótlás mellett tíz betegből kilenc statinkezelést is kapott. Ezalatt a súlyos és típusos betegekben ($n=5$, koruk $6\pm5,1$ év) többször láttunk májenzim-emelkedést (AST, ALT, ritkán LDH), mint enyhe SLOS esetén ($n=5$, koruk $5,1\pm1$ év), (3. táblázat). A transzamináz emelkedés egyénileg változó, de ezek átlaga kétszer több a típusos-súlyos SLOS-csoportban, mint az enyhe fenotípusnál. Bár a 3. táblázat két csoportjának életkora hasonló, a romló májfunkciót indokolhatja, hogy a súlyos és típusos betegek kezelése hosszabb ideje tartott ($2,9\pm2,6$ év), mint az enyhe SLOS-csoporté ($0,8\pm1$ év). Ezzel szemben a szérum kreatininz, össz-bilirubin és vesefunkció esetén nem láttunk eltérést két év statinkezelés alatt.

Az SLOS prevalencia csökkentése érdekében lényeges kérdés, hogy a tünetmentes hordozókban mérhető-e és mennyi a 7DHC. A fenti GC-MS módszerrel 15 hordozó szülő közül 12 szérumában tudtunk $0,3-5,5$ mg/l közötti emelkedett 7DHC-t detektálni (referens tartomány $<0,15$ mg/l), náluk a $198-4110$ közötti Cho/7DHC arány is eltért a referens értéktől ($>10\,000$).

3. ábra A klinikai súlyosság és a kezdeti Cho/7DHC közötti inverz kapcsolat ($n:15$)



1. táblázat SLOS-betegek kezdeti klinikai adatai (n:15) A kezelés előtt mért Cho <1 mmol/l és Cho/7DHC <2 rossz prognózist jelent, a várható élethossz rövidebb egy évnél. F: férfi, N: nő; T: típusos, S: súlyos, M: enyhe SLOS, †: meghalt, 8. és 9. betegek testvérek

BETEG	NEM	ÉLETKOR (EV) A VIZSGÁLAT KEZDETÉN	ÉLETKOR (EV) VIZSGÁLAT VÉGÉN	KLINIKAI SCORE	FENOTÍPUS	7DHC (MG/L)	Cho (MMOL/L)	Cho/7DHC (mg/mg)	ALFA-LIPOPROTEIN (%)	BÉTA-LIPOPROTEIN (%)
						REFERENCIA TARTOMÁNY				
						<0,15	<1év: 1,3-4,9 >1év: 2,8-5,2	>10 000	15-40	42-70
1	N	6,0	10	10	M	130	3,47	10,30	32	68
2	N	18,0	18	15	M	87	2,44	10,90	42	58
3	N	0,5	2	15	M	217	2,00	3,60	30	70
4	F	0,6	1	20	M	156	1,57	3,80	28	72
5	F	7,0	15	25	T	102	2,77	10,50	38	62
†6	N	0,1	†1	40	T	205	2,10	4,00	25	75
7	F	0,1	1	20	T	274	1,47	1,90	41	59
8	F	0,1	3	40	T	253	1,08	1,60	32	64 4% KILO- MIKRON
9	F	0,2	8	50	T	302	1,40	1,80	28	72
10	F	0,1	2	40	T	155	0,72	1,80	16	84
†11	F	0,1	†1	30	T	126	0,77	2,36	41	59
†12	N	0,1	MEGHALT ÚJSZÜLÖTTKÉNT	55	S	109	0,31	1,10	12	88
†13	N	0,1	MEGHALT <2 HÓ	55	S	174	0,58	1,30	2	98
†14	N	0,1	MEGHALT ÚJSZÜLÖTTKÉNT	55	S	215	0,89	1,80	8	92
†15	F	0,1	MEGHALT ÚJSZÜLÖTTKÉNT		S	224	0,86	1,50		

2. táblázat Kezdeti lipidértékek különböző súlyosságú SLOS esetén (n=15) Az anatómiai eltérésen alapuló SLOS fenotípusok: enyhe score <20, típusos score: 20-50, súlyos score >50 *szignifikáns különbség az enyhe és súlyos SLOS kezdeti Cho átlagnál, p=0,01 Bonferroni-teszt ** szignifikáns különbség a három csoport Cho/7DHC átlagában (Kruskal–Wallis-teszt p=0,004) *** az a-lipoproteinek aránya szignifikánsan alacsonyabb súlyos SLOS-nál, mint típusos (p=0,003) vagy enyhe SLOS esetén (p=0,004), Bonferroni-teszt.

KLINIKAI ADATOK KOLESZTERINPÓTLÁS ÉS STATIN KEZELÉS ELŐTT	ÉLETKOR VIZSGÁLAT KEZDETÉN (ÉV)	KLINIKAI SCORE	7DHC (mg/L)	CHO* (mmol/L)	CHO/7DHC** (mg/mg)	ALFA-LIPOPROTEIN (%)***	BÉTA-LIPOPROTEIN (%)	KILO-MIKRON (%)
REFERENCIA TARTOMÁNY			<0,15	<1 év: 1,3-4,9 >1 év: 2,8-5,2	>10 000	15-40	42-70	0
ENYHE SLOS (N:4) ÁTLAGA	6,3	15	147,7	2,4	7,2	33	67	0
SD:	8,2	4,1	54,6	0,80	4	6,2	6,2	
TÍPUSOS SLOS (N:7) ÁTLAGA	1,3	35	202,0	1,5	3,4	31,6	67,8	0,6
SD:	2,8	10,4	77,0	0,70	3,2	9,3	9,4	1,5
SÚLYOS SLOS (N:4) ÁTLAGA	0,1	55	180,5	0,64	1,43	7	93	0
SD:	0,0	0,0	52,4	0,27	0,3	7,1	7,10	

3. táblázat Statinkezelés alatt súlyos és típusos SLOS-betegeknél kimutatott májfunkció romlás

KEZELT SLOS- BETEGEK KLINIKAI SÚLYOSSÁG SZERINT		KLINIKAI SÚLYOSSÁGI SCORE	ÉLETKOR (ÉV)	KEZELÉS IDŐTARTAMA (ÉV)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	LDH (U/L)
REFERENCIA TARTOMÁNY					<40	<40	<50	1-3 év <850 4-12 év <580
SÚLYOS ÉS TÍPU- SOS SLOS (n:5)	ÁTLAG	40	6,0	2,9	50	47	16	495
	SD:	8	5,1	2,6	29	25	8	145
ENYHE SLOS (n:5)	ÁTLAG	15	5,1	0,8	23	21	41	419
	SD:	5,7	1	1	7	21	41	113

Megbeszélés

A Smith–Lemli–Opitz-betegség becsült gyakorisága 1:20 000 és 1:60 000 között lehet (28, 29). Néhány európai régióban ennél magasabb 1:10 000 és 1:20 000 közötti incidenciáról számoltak be (12). Magyarországon 2002 óta tizenöt SLOS-beteget tudtunk diagnosztizálni a 7DHC UV-spektrofotometriás meghatározásával, amely jó korrelációt mutat a GC/MS módszerrel (26, 10). Megemlítendő, hogy az UV módszer kényelmes, gazdaságos, de a GC-MS-nél kevésbé érzékeny teszt (19), ezért hordozók szűrésére az UV módszer nem alkalmas. A koleszterinszint és a fenotípusok között talált összefüggés összhangban van Sikora nemrég megjelent közleményével, amely szerint a koleszterinszint alapvetően meghatározza a fenotípust és az életkilátást (1). Emellett a Cho/7DHC arányt egy további prognosztikai, illetve monitorozó markernek tekintjük.

Új megfigyelés, hogy súlyos SLOS-betegekben nemcsak rendkívül alacsony az összkoleszterin (súlyos SLOS újszülöttnél lehet 1 mmol/l alatti), de az alfa-lipoproteinek aránya is jóval kevesebb a hasonló korú egészséges

egyénekhez képest. Ez egyrészt lehet a 7DHCR enzim hiánya miatt, másrészt a májban felhalmozódó toxikus szterol és főként a belőlük képződő oxiszterolok is okozhatják a májban az apolipoproteinek és a HDL-C szintézis lassulását. Ismert, hogy a 7DHC fokozottan reagál a reaktív oxigéngyökökkel (30), ezért a súlyos SLOS-betegnél feltehetően gyorsul a lipidperoxidáció. További vizsgálatok dönthetik el, hogy ez összefügg-e az újszülöttkorban meghalt SLOS-betegekben talált kevés és rendellenes alfa-lipoprotein frakciókkal. Sajnos az SLOS kezelése többnyire csak mérsékelt eredménnyel jár, kis mértékben a koleszterinpótlás általában javítja a szterol abnormalitást (31, 18). A korábban alkalmazott statinterápia célja elvileg az volt, hogy a HMG-CoA-reduktáz gátlásával lassítsák a 7DHC és 8DHC képződését (17). Bár fibroblaszt kultúrában statin hatására még a 7DHCR enzimaktivitás emelkedését is leírták (32), a humán vizsgálatok ezt nem tudták egyértelműen alátámasztani. Adataink megerősítik Starck véleményét, hogy statinkezelés alatt előfordulhat májfunkcióromlás, főleg típusos és súlyos SLOS betegekben. Ez a máj csökkent detoxikáló képességére utal, és talán emiatt nehéz SLOS-betegeknél alkalmazni a statinterápiát (21). Az általunk monitorozott tíz betegből korábban öten simvastatint (0,2-1 mg/kg/nap) és hárman atorvastatint (0,2-0,5 mg/kg/nap) kaptak. Egy betegnél az atorvastatint lecserélték a jobban tolerálható rosuvastatinra (0,2 mg/kg/nap), a többiek 2013 óta csak koleszterinpótlást kapnak. Egyre több klinikai adat utal arra, hogy ezeknél a gyermekeknél a statinkezelést alaposan meg kell fontolni és ha a májfunkció romlik, a koleszterinpótlás önmagában is elegendő lehet (21).

Haas szerint kétféle terápiás megközelítés lehetséges: a koleszterinpótlással a koleszterint növelik, a statinnal elvileg a DHC-szint csökkenthető és ezzel javulhat a Cho/7DHC arány (19).

Mivel a betegekben talált genotípus alapján a fenotípus nem mindig ítéhető meg, ezért az SLOS biokémiai markereinek továbbra is fontos szerep jut (33). A fenti lipidparamétereken alapul a diagnózis, a fenotípusba való besorolás és az ennek megfelelő prognózis. Ezért a pediátriai gyakorlatban a fenti tünetekkel járó súlyos, mással nem magyarázható szomatomentális eltérések esetén gondoljunk SLOS lehetőségére és ellenőrizzük a koleszterint, illetve a 7DHC-szintet. Az SLOS újszülöttek szűrési lehetőségét köldökvérből – GC módszerrel – Gelso és munkatársai 2012-ben írták le (27). A hordozók szűrése azonban GC-MS módszerrel sem egyszerű, mert kismértékben átfedés lehet a 7DHC-értékekben a hordozók és nem hordozók között. Az utóbbi években leírt és általunk módosított szeparálást követően GC-MS módszerrel a hordozók többségében kimutatható a 7DHC, ami pozitív esetben kiindulópont lehet további genetikai vizsgálathoz pl. sorozatos vetélés esetén. A hordozók kis hányadánál ~0,3 mg/l alatt a 7DHC kimutatása GC-MS-sel is nehéz, ezért ebben a tartományban az egészségesekkel való átfedés miatt a mutációk vizsgálata célravezetőbb. Az SLOS-ban érintett családokban ugyancsak a betegséget okozó génmutációk azonosítása szükséges a prenatális diagnosztikához (24, 32, 33,34, 35).

Az SLOS gyakoriságának csökkentésére a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézete a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikával együttműködve 2009-ben bevezette a prenatális genetikai vizsgálatot az érintett családok számára (11). Erről a súlyos betegségről tájékoztat a [www. smithlemlipitiz.hu](http://www.smithlemlipitiz.hu) weblap, amely az érintett családok által létrehozott szakmai fórum.

Köszönetet mondunk a betegek kezelőorvosaként dr. Balogh Lídiának, dr. Csábi Györgyinek, dr. Csákváry Violetának, dr. György Ilonának, dr. Hadzsiev Kingának, dr. Nagy Andreának, dr. Szabó Lászlónak, dr. Török Olgának, a szakmai konzultációkért dr. Jávorszky Eszternek és dr. Holhós Nórának, a technikai segítségért Dzsudzsák Erikának és Fülöpné Magyar Szilviának.

A publikáció elkészítését a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0031 számú projekt támogatta.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. A munkát az OTKA támogatta (109076).

Rövidítések

ALT=alanin-aminotranszferáz, AST=aszpartát-aminotranszferáz, Cho=koleszterin, 7DHC=7-dehidrokoleszterin, 7DHCR=7-dehidrokoleszterol-reduktáz, HDL-C=high density lipoprotein, GGT=gamma-glutamiltanszferáz, GC-MS=gázkromatográfiás-tömegspektrometriás módszer, LDH=laktát-dehidrogenáz, SLOS=Smith–Lemli–Opitz-szindróma

Irodalomjegyzék:

1. Smith DW, Lemli L, Opitz JM. A newly recognized syndrome of multiple congenital anomalies. *J Pediatr* 1964; 64: 210–217.
2. Fitzky BU, Witsch-Baumgartner M, Erdel M, et al. Mutations in the delta 7-sterol reductase gene in patient with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8181–8186.
3. Kelley RI, Hennekam RCM. 2000. Smith-Lemli-Opitz syndrome. (in: Scriver, Beaudet, Valle-Sly, et al. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*) Mc Graw-Hill; 1997. 6183–6201.
4. Opitz JM. RHD (so-called Smith-Lemli-Opitz) syndrome. *Curr Opin Pediatr* 1999; 11: 353–362.
5. Porter FD. Smith-Lemli-Opitz syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *Eur J Human Genet* 2008; 16: 535–541.
6. Ryan AK, Bartlett K, Clayton P, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome: a variable clinical and biochemical phenotype. *J Med Genet* 1998; 35: 558–565.
7. Irons M, Elias ER, Tint GS, et al. Abnormal cholesterol metabolism in the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet* 1994; 50: 347–352.
8. Tint GS, Irons M, Elias ER, et al. Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *N Eng J Med* 1994; 330: 107–113.
9. Kelley RI, Hennekam RCM. The Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Med Genet* 2000; 37: 321–335.
10. Kelley RI. Diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome by gas chromatography/mass spectrophotometry of 7-dehydrocholesterol in plasma, amniotic fluid and cultured skin fibroblasts. *Clin Chim Acta* 1995; 236: 45–58.
11. Balogh I, Koczok K, Szabó GP, et al. Mutational spectrum of Smith-Lemli-Opitz syndrome patients in Hungary. *Mol Syndromol* 2012; 3: 215–222.
12. Cunnif C, Kratz LE, Moser A, et al. Clinical and biochemical spectrum of patients with RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome and abnormal cholesterol metabolism. *Am J Med Genet* 1997; 68: 263–269.
13. Wassif CA, Maslen C, Kachiele-Linjewile S. Mutation in the human sterol delta-7 reductase gene at 11q12-13 cause Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 55–62.
14. Waterham HR, Wijburg FA, Hennekam RC. Smith-Lemli-Opitz syndrome is caused by mutations in the 7-dehydrocholesterol reductase gene. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 329–338.
15. Witsch-Baumgartner M, Loffler J, Utermann G. Mutations in the human DHCR7 gene. *Hum Mutat* 2001; 17: 172–182.
16. Witsch-Baumgartner M, Loffler J, Menzel HJ. Frequency gradients of DHCR7 mutations in patient with Smith-Lemli-Opitz syndrome in Europe: evidence for different origins of common mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 45–50.
17. Jira PE, Wevers RA, De Jong J, et al. Simvastatin. A new therapeutic approach for Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Lipid Res* 2000; 41: 1339–1346.
18. Nwokoro NA, Mulvihill JJ. Cholesterol and bile acid replacement therapy in children and adults with Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 68: 315–321.
19. Haas D, Garbade SF, Vohwinkel C, et al. Effect of cholesterol and simvastatin treatment in patient with Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Inherit Met Dis* 2007; 30: 375–387.
20. Sikora DM, Ruggiero M, Petit-Kekel K, et al. Cholesterol supplementation does not improve developmental progress in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Ped* 2004; 783–791.
21. Starck L, Lovgren-Sandblom A, Bjorkhem I. Simvastatin treatment in the SLO syndrome: a safe approach? *Am J Med Genet* 2002; 113: 183–189.
22. Szabó L, Erwa W, Soroncz M. Metabolic background of the Smith-Lemli-Opitz (genito-facio-digital) syndrome. *Gyermekegyógyászat* 2002; 53 (6): 695–702.
23. Szabó GP, Oláh AV, Kozák L, et al. A patient with Smith-Lemli-Opitz Syndrome: novel mutation of the DHCR7 gene and effects of therapy with simvastatin and cholesterol supplement. *Eur J Pediatr* 2010; 169 (1): 121–123.
24. Sharp P, Haan E, Fletcher JM, et al. First-trimester diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Prenat Diagn* 1997; 17: 355–361.
25. Stanek AJ, Ciara E, Malunovic EM, et al. Mild Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Eur J Med Gen* 2008; 51: 124–140.
26. Honda A, Batta AK, Salen G, et al. Screening for abnormal cholesterol biosynthesis in the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 68: 288–293.
27. Gelzo M, Clericuzio S, Barone R, et al. A routine method for cholesterol and 7-dehydrocholesterol analysis in dried blood spot by GC-FID to diagnose the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Journal of Chromatography B* 2012; 907: 154–158.
28. Kelley RI. Editorial: a new face for an old syndrome. *Am J Med Genet* 65: 251: 256.
29. Nowaczyk MJM, McCaughey D, Whelan DT, et al. Incidence of Smith-Lemli-Opitz syndrome in Ontario, Canada. *Am J Med Genet* 2001; 102: 18–20.
30. Xu, L, Davis TA, Porter NA. Rate constants for peroxidation of polyunsaturated fatty acids and sterols in solution and in liposomes. *J Am Chem Soc* 2009; 131: 13037–13044.

31. Ullrich K, Koch HG, Meschede D. Smith-Lemli-Opitz syndrome; treatment with cholesterol and bile acids. *Neuropediatrics* 1996; 27: 111–112.
 32. Shefer S, Salen G, Honda A, et al. Rapid identification of Smith-Lemli-Opitz syndrome homozygotes and heterozygotes (carriers) by measurement of deficient 7-dehydrocholesterol-delta 7-reductase activity in fibroblasts. *Metabolism* 1997; 46: 844–850.
 33. Oláh AV, Szabó GP, Varga J, et al. Relation between biomarkers and clinical severity in patients with Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Eur J Pediatr* 2013; 172: 623–630.
 34. Kratz LE, Kelley RI. Prenatal Diagnosis of the RSH/Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 82: 376–381.
 35. Mills K, Mandel H, Montemagno R, et al. First trimester prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome (7-dehydrocholesterol reductase deficiency). *Pediatr Res* 1996; 39: 816–819.
-