

Ritka genetikai betegségek klinikai és genetikai diagnosztikájában szerzett tapasztalataink a kelet-magyarországi régióban

(2007- 2013)

Szakszon Katalin, Oláh Éva

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Gyermekgyógyászati Intézet,
Klinikai Genetikai Központ, Debrecen

Dr. Szakszon Katalin¹, Dr. Balogh Erzsébet², Dr. Ujfalusi Anikó², Bessenyei Beáta²,
Dr. P. Szabó Gabriella¹, Dr. Balogh István², Dr. Oláh Éva¹

¹Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Gyermekgyógyászati Intézet,
Klinikai Genetikai Központ, Debrecen

²Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Laboratóriumi Medicina Intézet,
Debrecen

Rövid cím: Ritka betegségek diagnosztikájában szerzett tapasztalatok

Bevezetés: A ritka betegségek 80%-a genetikai eredetű, 50%-uk veleszületett rendellenesség formájában manifesztálódik mentális retardációval vagy anélkül. Ellátásukban a genetikai eltérések korai felismerésére, és a prevencióra kell törekednünk. *Célkitűzés:* A Debreceni Egyetem Klinikai Genetikai Központja járóbeteg rendelésén 2007.aug.01- 2013.márc.31. között megjelent veleszületett rendellenességes és/vagy mentálisan retardált betegek pontos diagnózisának felállítása, a prénatális diagnózis lehetőségének biztosítása, az eltérő genetikai csoportok megoszlásának felmérése és nemzetközi eredményekkel való összehasonlítása, a ritka genetikai betegségek hazai vizsgálatára alkalmas diagnosztikus útmutató kidolgozása. *Módszer:* A betegeket klinikai adataik és genetikai eredményeik alapján tíz etiológiai csoportba soroltuk. *Eredmények:* Klinikai diagnózist az esetek 64.3%-ában, genetikailag igazolt diagnózist 37.8%-ban igazoltunk, míg 35.7%-ban a diagnózis tisztázatlan maradt. Diagnosztikus munkánk során több ritka dysmorphia-szindróma és anyagcserebetegség került – Magyarországon elsőként – felismerésre, két ritka kórkép a világirodalomban is egyedülállónak számít. *Következtetések:* Központunkban a diagnosztikus hatékonyság kromoszóma rendellenességek esetén meghaladja, ismert mikrodeléciók és dysmorphia-szindrómák esetén eléri a nemzetközi mutatókat, míg mendeli betegségek és szubmikroszkopikus kópiaszám-változások esetén elmarad azoktól.

Kulcsszavak: ritka betegség, veleszületett rendellenesség, etiológia

Introduction: 80% of rare diseases have a genetic origin, 50% manifest as congenital anomalies. Their adequate health care includes early recognition of genetic anomalies and prevention of recurrence. *Objectives:* The authors' aim was to provide correct diagnoses to patients with multiple congenital anomalies with or without mental retardation attending to the outpatient clinic of the Clinical Genetics Center at the University of Debrecen in the time interval of Aug.01.2007- March 31.2013., establish the possibility of prenatal diagnosis, assess the distribution of different genetic mechanisms in the background of rare genetic diseases, compare them with international data and develop an algorithm for the diagnostic approach of rare genetic diseases applicable in Hungary. *Methods:* Clinical data and genetic results of patients were evaluated, and patients were categorized into one of the ten proposed etiological groups, based on which the distribution of genetic causes were defined. *Results:* Clinical diagnosis was achieved in 64.3% of patients, confirmed genetic diagnosis in 37.8%, and 35.7% of patients remained undiagnosed. Several dysmorphic syndromes and metabolic disorders were first diagnosed in Hungary, two of which being unique in the literature. *Conclusion:* In our center the diagnostic yield of chromosome-aberrations exceeds the international standards, that of known microdeletions and dysmorphic syndromes meet international data, and the genetic diagnosis of mendelian disorders and submicroscopic copy number changes remains below international figures.

Key words: rare disease, congenital malformation, etiology

Ritka betegségek azok a kórképek, amelyek prevalenciája $<1/2000$, ultra-ritkák azok, amelyek $<1/50.000$ gyakorisággal fordulnak elő a népességben. A ritka betegségek külön-külön ritkák, de a ritka betegségben szenvedők száma nagy, így jelentős betegcsoportot képviselnek. A ritka betegségek felismerése és azonosítása – a róluk szóló szakmai ismeretek és tapasztalatok hiánya, valamint a diagnózisukra alkalmas vizsgálómódszerek korlátozott, nehezen elérhető és költséges volta miatt - gyakran igen nehéz, és rendkívül hosszú időt, akár éveket vehet igénybe. Ugyanakkor e betegségek jelentős hányada az életminőséget súlyosan romboló, fatális kimenetelű kórkép, kezelésükre a legtöbb esetben (95%-ukban) nincs mód. Ezért ellátásuk során a betegségek minél korábbi felismerésére, genetikai hátterük tisztázására és a megelőzésükre kell törekednünk. Jelenleg mintegy 7000 ritka betegséget ismerünk, ezek 80%-a genetikai eredetű [1, 2]. A fennmaradó 20% infektív, immunológiai, degeneratív vagy proliferatív természetű, hátterükben azonban egyre gyakrabban igazolódik genetikai predispozíció. Jelenleg mintegy 7000 ritka betegséget ismerünk. Magyarországon kb. 50 000 egyén szenved valamilyen ritka betegségben, amelyeknek hátterében gyakran szintén hajlamosító genetikai eltérések állnak.

Különösen nagy a ritka betegségek jelentősége a gyermekgyógyászatban, mivel mintegy 50%-uk gyermekkorban manifesztálódik veleszületett rendellenesség formájában, mentális retardációval társulva, vagy anélkül [2]. Az újszülöttkori halálozások 20-30%-a, a gyermekkori halálozások 30-50%-a genetikai okra vezethető vissza [3-5]; a nyugati államokban a kórházi fekvőbeteg felvételek 71%-ára genetikai eredetű betegség miatt kerül sor, az összes anyagi ráfordítás mintegy 81%-át emésztve fel [6]. Hazánkban a veleszületett rendellenességek összesített születés kori prevalenciája $600/10^4$ [7]. A genetikai rendellenességek jelentőségét növeli, hogy többségük mentális retardációval jár, ellátásuk jelentős fizikai, anyagi és pszichés terhet ró az érintett családokra és a társadalomra egyaránt. Fontos továbbá, hogy az egészségügyi ellátás fejlődésének köszönhetően ma már azok a betegek is életben tarthatók, akiket korábban

még hamar elveszítettünk, így megélve a felnőttkort nagyobb számú krónikus betegségben, maradandó fogyatékoságban szenvedő felnőtt beteg ellátása terheli az egészségügyet és növeli tovább a szükséges ráfordítást.

A veleszületett rendellenességek genetikai okait Turnpenny és Ellard foglalták össze 2005-ben. Eszerint a G-sávozással is látható kromoszómarendellenességek az esetek mintegy 6%-áért felelősek (beleértve a Down-szindrómát, amely ennek csaknem a felét teszi ki, és 1/1000 prevalenciáját tekintve nem számít ritka betegségnek), szubmikroszkopikus patológiás kópiaszám-változások (többletek és hiányok) további 10-14%-ban, mendeli öröklődésű betegségek 7.5%-ban, környezeti ártalmak 5-10%-ban, multifaktoriális eredet 20-30%-ban azonosítható. Nincs pontos adat az uniparentalis diszomiák (UPD) és imprinting defektusok arányáról, az esetek közel 50%-ában pedig az eredet tisztázatlan marad [8,9], jóllehet a genom-szintű assay-k bevezetésével fokozatosan csökken a diagnosztizálatlan esetek aránya.

Alacsony prevalenciájukból eredően a ritka betegségek diagnózisa gyakran rendkívül nehéz, idő- és költségigényes feladat. A genom-szintű vizsgálómódszerek – a molekuláris citogenetikai vizsgálatok, a teljes exom és teljes genom szekvenálás, az új-generációs szekvenálással végzett “panel-tesztek” alapjaiban változtatták meg az elmúlt 10-15 év genetikai munkáját, nagyban hozzájárulva új gének oki szerepének felismeréséhez egyes szindrómák létrejöttében, genotípus-fenotípus összefüggések megértéséhez, új szindrómák felfedezéséhez. Az ilyen korszerű, nagy felbontási képességű vizsgálómódszerekkel nyert információ ugyanakkor a korábbiaktól teljesen eltérő interpretálást, komoly bioinformatikai háttérrel és minden eddiginél precízebb dysmorphológiai ismereteket igényel. A lehető legnagyobb találati aránnyal bíró módszer megválasztása a lehető legalacsonyabb költségen ugyanis a diagnosztikus gyanú minél pontosabb előzetes klinikai alátámasztását, a fenotípus, a látható és rejtett morfológiai jegyek és funkcionális anomáliák precíz ismeretét feltételezi. „*Next generation sequencing requires next*

generation phenotyping” – így szól napjaink egyik legelismertebb szindromatológusának, Prof. Raoul Hennekam egyik közleményének a címe [10].

A fenotípus elemzésén alapuló diagnosztikus módszer a szindromatológia, amely a tünetek közül azonosítja azokat az ún. szignál tüneteket, amelyek közös etiológiát tükröznek, amelyek alapján a diagnózis felállítható és a differenciáldiagnosztikai spektrum szűkíthető [11]. A diagnosztikus gyanú természetesen – ahol lehet – molekuláris megerősítést igényel. Ma már a pusztán fenotípus alapján felállított diagnózis nem elfogadható azokban az esetekben, ahol lehetőség van a molekuláris háttér tisztázására.

Az alacsony vagy igen alacsony betegségenkénti prevalencia indokolja a ritka kórképek laboratóriumi diagnosztikájának centralizációját. Ez a költséghatékonyságot és a vizsgált entitásokban gyűjtött tapasztalat megőrzését és fejlődését szolgálja. Az érdeklődési terület, a betegségek földrajzi eloszlása és saját igényei alapján minden, ritka betegségekkel foglalkozó laboratórium kifejleszti a maga diagnosztikus spektrumát, és együttműködésre törekszik más laboratóriumokkal.

Jelen dolgozat témája a ritka betegségek azon csoportjának elemzése, amelynek háttérében ismert vagy feltételezett genetikai ok áll. A szerzők az általa a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Gyermekgyógyászati Intézetének Klinikai Genetikai Központjában az elmúlt 5 ½ évben ellátott betegek adatait elemezve értékelik a ritka genetikai betegségek területén végzett diagnosztikus munka eredményeit, hatékonyságát, hiányosságait és változtatásokat javasolnak e betegcsoport ellátásának javítása érdekében. A betegeket betegségük háttérében álló genetikai eltérés típusa és a kimutatására szolgáló módszerek szerint csoportosítva áttekintik az egyes etiológiai csoportokat minden csoportból kiemelve az általuk diagnosztizált legritkább és tanulságos eseteket, amelyek közül több nemcsak hazánkban elsőként diagnosztizált, hanem a világirodalomban is ritka vagy egyedülálló.

Kelet-Magyarország lakosságának posztnatális genetikai ellátását végző egyetlen centrumként célunk a hozzánk forduló veleszületett rendellenességes betegek esetében a pontos diagnózis tisztázása, a gondozás és a lehetséges terápiás beavatkozások irányítása, a fokozott kockázatú családokban prenatalis diagnózis lehetőségének biztosítása volt. További feladatnak a különböző genetikai mechanizmusok megoszlásának felmérését, a kapott arányok nemzetközi eredményekkel való összehasonlítását, a genotípus-fenotípus összefüggések tanulmányozását, és egy, a ritka genetikai betegségek vizsgálatára alkalmas diagnosztikus útmutató kidolgozását tekintettük. Arra kívánjuk felhívni a figyelmet, hogy a hazai genetikai diagnosztika tovább lépéséhez – a fejlett országokban ma már általánosan alkalmazott – új molekuláris genetikai módszerek (a-CGH, exom-szekvenálás, új generációs szekvenálás, teljes genom megközelítésű vizsgálatok: Genom-wide association studies stb.) bevezetése sürgető.

Betegek és módszerek

A szerzők a Debreceni Egyetem Klinikai Genetikai Központjának járóbeteg szakrendelésén 2007. augusztus 1 és 2013. március 31. között vizsgálatra megjelent betegek klinikai és genetikai adatait, eredményeit tekintették át. A személyes és egészségügyi adatokat a DE OEC Betegdokumentációs és Klinikafinanszírozási Főosztály bocsátotta rendelkezésünkre. Saját regiszter létrehozásával, a cito- és molekuláris genetikailag illetve klinikailag igazolt diagnózisokat tíz etiológiai csoportba osztva megállapítottuk az egyes genetikai mechanizmusok részesedésének arányát a veleszületett rendellenességek kialakulásában, és összevetettük azt más szerzők adataival. Az egyes etiológiai csoportok a következők: 1. G-sávozással kimutatható kromoszóma eltérések; 2. Genetikai állomány vesztése vagy nyérése: Fluoreszcens in situ hybridizációval (FISH-sel) detektálható mikrodélciós szindrómák, számfeletti kis marker kromoszómák, szubtelomerikus kromoszóma átrendeződések; 3. Szubmikroszkópikus kópiaszám-változások: Comparative genomikus hybridizációval (CGH) diagnosztizálható

kiegyensúlyozatlan eltérések; 4. Mendeli öröklődésű betegségek – mutáció analízis molekuláris genetikai módszerekkel (PCR, szekvenálás); 5. Uniparentalis diszómiák, metilációs defektusok; 6. Mitochondriális betegségek; 7. Multifaktoriális kórképek; 8. Fenotípus alapján diagnosztizált, de molekulárisan nem bizonyított betegségek; 9. Infertilitás (részleteiben nem tárgyaljuk); 10. Tisztázatlan, valószínűleg genetikai eredetű állapotok. Az egyes vizsgálatok sorrendiségének kijelölésében az 1. ábrán látottak szerint jártunk el, figyelembe véve a nemzetközi ajánlásokat, de alkalmazkodva a hazai lehetőségekhez.

A genetikai laboratóriumi módszerek itt részletesen nem kerülnek ismertetésre. A genetikai vizsgálatok elvégzéséhez minden esetben rendelkezünk a szülők/gondviselők hozzájárulásával.

Eredmények

A fenti periódusban összesen regisztrált 5432 eset 2049 vizsgált beteg adatainak felelt meg. 1026 esetben genetikai betegséget nem igazoltunk, 21 egyén tünetmentes hordozója volt valamely X kromoszómához kötött vagy autoszómális recesszív állapotnak. fenotípusos eltéréseket 1002 egyén mutatott (mivel a 21 hordozó genotípusa volt kóros, a két utóbbi csoportot a továbbiakban együtt, mint „geno-/fenotípusosan kóros” egyének csoportját kezeljük). Négyszázhuszonkilenc betegben veleszületett rendellenesség fordult elő intellektuális deficit nélkül, 573 beteg mentálisan is érintett volt.

Kromoszóma rendellenességek. Az 1023 betegből 220-ban (21.5%) azonosítottunk G-sávozással látható kromoszómarendellenességet: 188 esetben (85.4%) az autoszómák számbeli vagy szerkezetbeli eltéréseit, (1-22 kromoszómák), 31 esetben (14.1%) a nemi kromoszómák aberrációit (X and Y kromoszómák), egy esetben (0.5%) mindkettőt (1. táblázat). A leggyakoribb autoszómális kromoszóma eltérésnek a Down szindróma bizonyult: 105 esetben diagnosztizáltuk, ami az összes vizsgált beteg 5,1%-át, a kóros kariotípusú betegek közel felét jelenti. 13-as és 18-as triszómiát összesen három betegnél igazoltunk. Huszonnyolc egyén bizonyult klinikailag

egészséges reciprok transzlokáció hordozónak, két esetben pericentrikus inverzió került kimutatásra, míg hét beteg citogenetikailag kiegyensúlyozott transzlokáció hordozás mellett kóros fenotípust mutatott. Utóbbi esetekben a transzlokációs töréspontokban szubmikroszkopikus deléció vagy duplikáció jelenlétét feltételezhetjük, aminek igazolása array-CGH módszerrel, vagy MLPA-val lenne lehetséges. Nagy (>10 Mb) deléciók 16 betegben igazolódtak, duplikációt/parciális triszómiát 14 betegben találtunk. Valamennyi deléciót vagy duplikációt hordozó beteg mentálisan retardált volt és multiplex morfológiai rendellenességeket mutatott. Egyéb kiegyensúlyozatlan eltérések (gyűrűkromoszóma, számfeletti kis marker, komplex átrendeződés, törékenység) 13 esetben került azonosításra.

Nemi kromoszóma eltéréseket a kromoszóma rendellenes esetek 14.1%-ában (31/220), az összes vizsgált egyén 1,5%-ában azonosítottunk. Közülük 45,X Turner szindrómát nyolc esetben, 47,XXY Klinefelter szindrómát hat, 48,XXXXY és 49,XXXXXY Klinefelter variánsokat egy-egy esetben találtunk. Dupla Y (47,XYY) egy betegnél, 46,XY gonadalis dysgenesis női külső nemi szervekkel két betegnél igazolódott. Összetett autoszomális és gonoszomális anomália egy esetben volt azonosítható.

FISH módszerrel igazolt finom kromoszóma eltérések: mikrodeléciók/duplikációk, számfeletti kis marker kromoszóma, szubtelomerikus átrendeződések. FISH-sel igazolt genetikai állományvesztés vagy nyereség 62 esetben volt azonosítható, ebből 40/1023 (3.9%) volt az ismert mikrodeléciós szindrómák száma, 22 esetben a G-sávozásos kariotípussal már látott rendellenesség a FISH-sel volt pontosítható. (A duplán történő számolást elkerülendő ezt a csoportot a kromoszóma rendellenességekhez soroltuk).

A laboratóriumunkban rendelkezésre álló régió-specifikus próbák alkalmazásával az 2.táblázatban felsorolt *mikrodeléciós szindrómákat* azonosítottuk. 1p36 deléció szindróma (2 eset), 3q29 (3q szubtelomerikus deléció szindróma, 1 eset), 4p16.3 deléció (Wolf-Hirschhorn

szindróma– 3 eset), 5p15.3 deléció (Cri-du-chat szindróma – 1 eset, 2 további esetben G-sávozással is látható deléció), 5q35 deléció (Sotos szindróma – 0 eset, 1 MLPA-val igazolt eset), 7p11.2 (Williams-Beuren szindróma – 11 eset), 9q34 deléció (Kleefstra szindróma – 0 eset, 1 eset CGH-val igazolva), 15p11.2 deléció (Prader-Willi/Angelman szindróma, 6/3 eset), 17p11.2 deléció (Smith-Magenis szindróma – 1 eset), 21q22.1 microduplikáció (Down-szindróma – 1 eset), 22q11.2 (DiGeorge/Velocardiofacialis szindróma – 6 eset), 22q13.3 deléció (Phelan-McDermid szindróma – 1 eset), és szubtelomerikus átrendeződések (4 eset).

Óriási klinikai haszna és 14-20%-os találati aránya ellenére klinikánk betegei számára csupán az elmúlt két évben nyílt lehetőség array CGH vizsgálatra, külföldi laboratórium munkája és egyedi társadalombiztosítási finanszírozás alapján, ezért az erre vonatkozó számadatok nem tükrözik a módszer diagnosztikus eredményességét. Összesen hat betegben igazoltunk array-CGH alkalmazásával *szubmikroszkopikus patológiás kópiaszám-változást*, valamennyi deléció volt, microduplikáció egy esetben sem igazolódott.

Szubmikroszkópos kópiaszám variációk – array-CGH értéke. A deléciót szenvedett kromoszómarégiók lokalizációja és nagyságuk a következő volt: 1p36.21p36.12 (10.3 Mb), 3p25.3p25.2 (3.4 Mb), 3q29 (not reported), 9q34.3 (958 kb), 12p12.1 (254 kb), 21q22.1 (308kb). Egy esetben véletlen leletként a Von Hippel Lindau (VHL) gén deléciójára derült fény a 3p25.3 régió belül. (3. táblázat).

Mendeli betegségek. Mendeli öröklődésű kórképet 10/1023 esetben (10.75%) sikerült genetikailag igazolni, két esetben biokémiai módszerrel. A molekuláris módszerrel alátámasztott mendeli kórképeket és az igazolt génmutációkat a 4. táblázatban foglaltuk össze. Egy különlegesen ritka, általunk diagnosztizált Mendeli betegség a blepharophimosis-ptosis-mentális retardáció szindrómacsoport Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson típusa, amelynek első közlésekor a háttérben álló genetikai mechanizmus még ismeretlen volt [12]. Röviddel a

munkacsoportunk esetismertetését követően került azonosításra teljes exom szekvenálással a KAT6B gene (Lysine-acetyltransferase 6B; OMIM 605880) kóroki szerepe a szindróma kialakulásában [13], amelynek alapján munkacsoportunk egy de novo heterozigóta nonsense mutációt c.5389C>T (p.Arg1797*) igazolt a betegben [14]. Ez volt az első megerősítő tanulmány a gén identifikálását követően, és az általunk ismertett eset volt az első, amelyben neuroanatómiai rendellenesség vizsgálatára és detektálására is sor került. Utóbbi jelentősége, hogy összefüggést igazol a KAT6B-nek a normális neuronális vándorlásban és szerveződésben betöltött kritikus szerepe, valamint a mutációt hordozó beteg finom strukturális agyi anomáliája között.

Egy másik mendeli betegség, a Niemann-Pick C esetében munkacsoportunk tevékenységéhez fűződik a betegség első hazai klinikai felismerése, valamint a diagnózishoz szükséges klinikai, hisztopathológiai és molekuláris vizsgálatok beállítása, amelyet így az ország más centrumai számára is biztosítani tudunk.

További genetikai alcsoportok. Uniparentális diszómiát és metilációs zavart 4-4 betegben azonosítottunk (egyenként 0.2%), Angelman, Prader-Willi, Beckwith-Wiedemann és Russel-Silver szindrómák hátterében.

Mitochondriális betegség igazolása három betegnél volt sikeres, egy további betegnél MRI spektroszkópia bizonyult diagnosztikus értékűnek.

Multifaktoriális betegségek: 22/2049 (az összes beteg 1.1%-a) mutatott multifaktoriális betegségre jellegzetes fenotípusos tünetet, izolált malformációt. Klinikailag diagnosztizált, molekulárisan nem megerősített kórképek

A vizsgált periódus alatt 249/2049 (12.2%) beteg kapott klinikai, *fenotípus alapján* felállított diagnózist molekuláris genetikai vagy molekuláris citogenetikai vizsgálatokkal történő alátámasztás nélkül (5. táblázat). A jelenlegi szakmai ajánlások szerint e betegek szinte

mindegyikében szükséges lenne array-CGH a mikrodélációk/duplicációk kimutatására, majd annak negativitása esetén exom szekvenálás a felelős génmutáció kimutatására. Napjainkban a technikai és anyagi feltételek szűkössége miatt valószínűtlen, hogy az a közeljövőben e korszerű tesztek minden szükséges esetben elvégzésre kerülhessenek.

Az etiológiai csoportból 30 esetben (pl. Acrodysostosis, Coffin-Siris, Klippel-Trenaunay-Weber szindróma), a háttérben álló genetikai mechanizmus nem volt ismert a diagnózis idején (Acrodysostosis és Coffin-Siris szindróma esetében a felelős gén a közelmúltban került azonosításra), ezen betegek közül néhányban exom szekvenálás lenne indokolt. 18 betegben igazoltuk a Marfan szindróma jellemző klinikai tüneteit, amelynek megerősítése a fibrillin-1 gén (FBN1; OMIM 13497) mutáció analízisével lehetséges. A nagyméretű (65 exon) gén vizsgálatát a mutációk random elhelyezkedése miatt új generációs szekvenálás teszi lehetővé, ami a közelmúltban kezdődött el a kollaboráló Laboratóriumi Medicina Intézetben. Jelenleg tömeges tesztlésre még nincs lehetőség. Tizenkét beteg esetében más centrumban került sor megerősítő vizsgálatokra, így mivel további gondozásuk is ott történik, kiestek a látóterünkéből. Harminc esetben a molekuláris ill. molekuláris citogenetikai vizsgálat még folyamatban van, eredményeikre várunk. Három beteg kivizsgálása során a szülők vagy a szakmai döntéshozók nem tartották indokoltnak a megerősítő vizsgálatokat. Száz esetben további molekuláris genetikai/citogenetikai vizsgálatra lenne szükség. Tizenegy olyan beteget láttunk, akiknél az anamnesztikus adatok és fenotípusos tünetek alapján teratogen ártalom (foetalis alkohol és retinsav-szindróma, rosszul kezelt anyai diabetes) tehető felelőssé a tünetekért. Harminchárom esetben magunk nem javasoltuk a megerősítő molekuláris vizsgálatok elvégzését a szindróma sporadikus megjelenését alátámasztó irodalmi adatok, a betegek jó életminősége ill. a még ismeretlen genetikai mechanizmusok miatt (Poland-anomalia, hemihyperplasia, oto-auriculo-vertebral defektusok). Három gyermek autoszomális öröklődésű betegsége ellenére halasztottuk a

vizsgálatot, mivel a gyermek nem érte el a fertilis kort és a szülők gyermekvállalásra nem készültek. Öt esetben az eddig elvégzett molekuláris vizsgálatok negatívnak bizonyultak, ami olyan genetikai mechanizmust valószínűsít, amelynek kimutatására jelenleg még nincs mód (pl. Nicolaides-Baraitser szindróma kimutatható SMARCA2 génmutáció nélkül).

Ebből a betegcsoportból egy ritka, klinikai szempontból tanulságos esetet, un. Solitary Median Maxillary Central Incisor szindrómában szenvedő beteget emeljük ki. A növekedésében mérsékelten retardált 16 éves leány már évek óta hormonszubsztitúcióban részesült a hypophysis valamennyi hormonjának elégtelensége miatt. A szindróma felismeréséhez, ami egy multiplex középvonalbeli rendellenesség, az alapos fizikális vizsgálat során felismert tünet, a maxillaris ív mértani közepén észlelt egyetlen metszőfog vezetett (1. ábra). A megszületett diagnózissal összhangban volt az MRI képen látott üres sella, az uterus és a vagina hypoplasiája. A panhypopituitarismus jelenléte és a holoprosencephalia hiánya ezt a beteget a világirodalomban is egyedülállóvá tette, fotóit, klinikai adatait bekérte a London Dysmorphology Database. Az eset további jelentősége, hogy a középvonalban elhelyezkedő felső metszőfog és az annak alapján célzottan keresett egyéb középvonalbeli defektusok csupán a gyermek 16 éves korában, a genetika rendelésen való megjelenésekor kerültek felismerésre, addig a hormonszubsztitúció szükségességének oka ismeretlen volt.

Infertilis betegek kimutatható fenotípusos eltérések nélkül. A jelen közleményben nem ismertett betegek az összes betegszám 13.9%-át tették ki (285/2049 beteg). Genetikai vizsgálati eredményeik munkatársunk, Mokánszki és mtsai közleményeiben kerültek ismertetésre [15,16,17,18,19].

Betegek klinikai és genetikai diagnózis nélkül. Az összes beteg 17.8%-a, a fenotípusosan kóros betegek 35.7%-a (365/2049) *nem kapott definitív diagnózist* az elmúlt 5 ½ alatt. Közülük azon 249 beteg esetében, akikben major veleszületett rendellenesség bármilyen mértékű mentális

retardációval társul, CGH vizsgálat indokolt lenne a szubmikroszkopikus kópiaszám-változások azonosítása és a differenciáldiagnosztikai spektrum szűkítésének céljából. Hetvenkilenc esetben X kromoszómához kötött mentális retardáció gyanúját vetettük fel a fiú nem, autizmus, viselkedészavar, más férfi családtagok érintettsége, valamint a durva dysmorphiás tünetek hiánya alapján. Negyvenkét beteg esetében feltételezett klinikai diagnózissal sem rendelkezünk: ez esetekben a teljes exom szekvenálás vihetne közelebb a diagnózishoz. Számolnunk kell azzal, hogy mindezen költséges vizsgálatok elvégzését követően is maradni fognak diagnózis nélkül maradt esetek. A továbblépést a génexpressziót módosító epigenetikai változások vizsgálata, további új módszerek hozzáférhetősége és a már alkalmazott korszerű módszerekkel nyert tapasztalatok gazdagodása, az indikációk pontosabb körvonalazása fogja segíteni.

A nemzetközi adatokkal való összehasonlíthatóság érdekében Rauch és mtsai közleményére támaszkodva (2006) [20] a mentálisan retardált 573 beteget etiológiai szempontok szerint csoportosítottuk. A következő hasonlóságokra és különbségekre derült fény: Számbeli kromoszómaaberrációkat 19.5%-ban azonosítottunk a fenti publikációban közölt 11.3%-kal szemben. Az array CGH-ből nyert adataink nem képezik összehasonlítás alapját a módszerhez való hozzáférés már említett hiányosságai miatt (0.6% vs.6.6% Rauch szerint); Az azonosított mikrodélációk aránya 5.6% volt, ami megfelel Rauch és mtsai 5.3%-os értékének. A tisztázott mendeli öröklődésű kórképek aránya saját anyagunkban 5,4%, ami elmarad az idézett munkacsoport 7.5%-os értékétől. A szubtelomerikus átrendeződések detektálási rátája: 1.2 vs. 1.3% és a tisztázatlan etiológiájú kórképek aránya: 53.9% vs.59.3% a két anyagban hasonlóan bizonyult (2 .a, b. ábra).

Megbeszélés

A ritka betegségek diagnózisa és menedzsmentje az orvostudomány folyamatosan bővülő területe és egyre nagyobb jelentőségű népegészségügyi probléma. Az “árva” (orphan) betegségek

alacsony prevalenciájának és súlyos, krónikus, gyakran fogyatékosághoz vezető jellegének egyedülálló kombinációja, a róluk szóló ismereteink hiánya, a diagnózishoz vezető genetikai tesztek sokrétűsége és költségigényes volta globális összefogást sürget, a betegek életminőségének javítása és a családokon belül az ismétlődési kockázat csökkentése érdekében.

Jelen munkánkban a DE OEC Gyermekgyógyászati Intézet Klinikai Genetikai Központja genetikai járóbeteg rendelésén megjelent 2049 egyén közül kiemelt 1023 kóros fenotípusú, mentálisan retardált és/vagy többszörös veleszületett rendellenességes beteg klinikai és genetikai vizsgálati eredményeit értékeljük azzal a céllal, hogy tapasztalataink összefoglalásával meghatározzuk jövőbeli feladatainkat. Tudomásunk szerint ez az első olyan áttekintő tanulmány hazánkban, amely nagyszámú beteg kapcsán vizsgálja az egyes genetikai etiológiai csoportok megoszlását, a diagnosztikus munka értékét és hiányosságait, a genetikai tesztek alkalmazhatóságát és az eredményeket a nemzetközi gyakorlattal és más szerzők adataival összevetve felhívja a figyelmet a hazai diagnosztika hiányosságaira és a lehetséges megoldásokra.

Diagnosztikus munkánk eredményeként könyvelhetjük el, hogy 1023 kóros fenotípusú beteg kétharmadában, 658 betegben (64.3%) - széles körű hazai és nemzetközi kollaborációs munka eredményeként - klinikai diagnózishoz jutottunk. Genetikai teszttel alátámasztott diagnózis 387/1023 esetben (37.8%) állt rendelkezésünkre, lehetőséget teremtve a betegség prognosztikai megítélésére és az érintett családokban – prenatális vizsgálat segítségével – újabb beteg gyermek születésének megelőzésére. A betegek egyharmadában 365 (35.7%) a diagnózis tisztázatlan maradt.

Adataink más szerzők adataival való összehasonlítására alapul szolgáló hasonló átfogó felmérés alig áll rendelkezésünkre. Hazai összehasonlításra nincs módunk, a rendelkezésünkre álló nemzetközi adatok pedig csupán a mentálisan retardált betegcsoportra vonatkoznak. Ezért

betegeink közül elválasztva az 573, mentálisan retardált beteget, ezek etiológiai besorolását hasonlítottuk össze Rauch és mtsai 2006-ban közölt adataival. [20].

Az összehasonlítás azt mutatta, hogy a G-sávozással kimutatható kromoszómarendellenességek, az ismert mikrodeléciók, az uniparentális diszómiaák és metilációs zavarok kimutatásában, valamint az extrém ritka szindrómák felismerésében, tehát mindazon entitásokban, amelyeknek tisztázásához klinikai szindromatológiai ismeretek szükségesek és rutinszerűen rendelkezésre állnak a megfelelő eszközös és anyagi feltételek, elérjük a nemzetközi színvonalat. Diagnosztizált eseteink megerősítik azt a van Karnebeek és mtsai közemúltban megfogalmazott véleményét, mely szerint a magas szintű dysmorphológiai értékelés 62%-ban abszolút szükséges volt a korrekt diagnózishoz, 79%-ban pedig jelentősen hozzájárult ahhoz [21].

A monogénes kórképek (beleértve az anyagcserebetegségeket is), az X-hez kötött mentális retardáció, a nem szindrómás mentális retardációk és a szubmikroszkópos kópiaszám variációk diagnosztikájában való elmaradásunk tükrözi a hazai technikai korlátokat, azt, hogy e kórképek tisztázásához külföldi laboratóriumokkal való együttműködés szükséges. Ez anyagi ráfordítást, hosszú adminisztrációs utat, időigényes szervezési munkát követel. Ez a hazai vizsgálatok bővítésének és a hazai finanszírozás megoldásának szükségességére hívja fel a figyelmet. Egyértelmű, hogy az array-CGH, az MLPA, az új generációs szekvenálás stb. hazai bevezetése a diagnosztikus idő csökkentése érdekében nem tűr halasztást.

Munkánk egyik fontos, nemzetközileg is elismerést kiváltó eredményét jelentik a hazánkban elsőként és a nemzetközi irodalomban közölt néhány eset egyikeként felismert ritka kórképek: a Niemann-Pick C típusa, a GAMT (guanidinoacetate N-methyltransferase) deficiencia, Mowat-Wilson, SMMCI, Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson, Phelan-McDermid, Sotos szindróma, 3q29 deléció, Kleefstra, és Hermansky-Pudlak szindróma, amelyek klinikai diagnózisát genetikai pontosítás követte.

A felsorolt ritka kórképek diagnosztikája széleskörű hazai és nemzetközi kollaboráció eredménye. Sikeressége tükrözi a genetikai diagnosztika centralizációjának és az együttműködésnek a szükségességét. A hazai vizsgálatok szélesítése mellett is szükség lesz a jövőben egy olyan kapcsolatrendszerre, egy olyan hálózatra, amelyen belül a tapasztalatok, ismeretek kicserélése lehetséges és az egyes laboratóriumokban végzett tesztek hozzáférhetőek lesznek. Ezt szolgálja az Orphanet hálózat, amelynek előnyeit napjainkban is élvezzük. A jövő feladata annak felmérése, mely genetikai tesztek érhetőek el hazai laboratóriumokban, melyek bevezetése és finanszírozása indokolt, mely tesztek esetében szükséges továbbra is külföldi laboratórium közreműködését kérni, hogyan lehet a beteg utakat és a mintaküldéseket egyszerűbbé tenni és a szakmai kapcsolatokat szorosabbra fűzni. Fontos lenne, a szindromatológus óriási háttérmunkájának, kereső, gondolkodó, és szervezési feladatainak elismerésére, és a jelenleg létező, rendkívül hiányos diagnózis- és beavatkozás-kódrendszer frissítésére, mintegy a ritka betegségek „láthatóvá tételére”. Ezért küzdenünk valamennyiünk feladata és a betegek érdeke.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki Orvos Gáborné, Bodnár Ferencné és Nagy Éva szakasszisztenseknek szakértelmükért, Jenei Zsuzsa koordinátornak és valamennyi hazai és külföldi genetikai laboratórium munkatársainak az együttműködésükért.

Irodalom

- [1] *Bavisetty S., Grody W., Yazdani S.:* Emergence of pediatric rare diseases. *Landes Bioscience.*, 2013, 1, 23579-1-5.
- [2] Eurordis- Rare diseases Europe.: What is a rare disease?
<http://www.eurordis.org/content/what-rare-disease> . 4-25-2012.
- [3] *Hudome S. M., Kirby R. S., Senner J. W., et al.:* Contribution of genetic disorders to neonatal mortality in a regional intensive care setting. *Am J Perinatol.*, 1994, 11(2), 100-103.
- [4] *Schulpen T. W., van Wieringen J. C., van Brummen P. J., et al.:* Infant mortality, ethnicity, and genetically determined disorders in The Netherlands. *Eur J Public Health.*, 2006, 16(3), 291-294.
- [5] *Stevenson D. A., Carey J. C.:* Contribution of malformations and genetic disorders to mortality in a children's hospital. *Am J Med Genet A.*, 2004, 126A(4), 393-397.
- [6] *McCandless S. E., Brunger J. W., Cassidy S. B.:* The burden of genetic disease on inpatient care in a children's hospital. *Am J Hum Genet.*, 2004, 74(1), 121-127.
- [7] *Czeizel A., Sankaranarayanan K.:* The load of genetic and partially genetic disorders in man. I. Congenital anomalies: estimates of detriment in terms of years of life lost and years of impaired life. *Mutat Res.*, 1984, 128(1), 73-103.
- [8] *Turnpenny P. D., Ellard S.* Emery's elements of medical genetics. Elsevier Churchill Livingstone2005.
- [9] *WHO.:* Birth defects. EB 125/7. 5-14-2009.
- [10] *Hennekam R. C., Biesecker L. G.:* Next-generation sequencing demands next-generation phenotyping. *Hum Mutat.*, 2012, 33(5), 884-886.

- [11] *Seemanova E*: Genetic syndromology. Introduction to a series. *Cas.Lek.Cesk.* 141: 299-303. (2002)
- [12] *Szakszon K., Berenyi E., Jakab A., et al.*: Blepharophimosis mental retardation syndrome Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson type - new findings with neuroimaging. *Am J Med Genet A.*, 2011, 155A(3), 634-637.
- [13] *Clayton-Smith J., O'Sullivan J., Daly S., et al.*: Whole-exome-sequencing identifies mutations in histone acetyltransferase gene KAT6B in individuals with the Say-Barber-Biesecker variant of Ohdo syndrome. *Am J Hum Genet.*, 2011, 89(5), 675-681.
- [14] *Szakszon K., Salpietro C., Kakar N., et al.*: De novo mutations of the gene encoding the histone acetyltransferase KAT6B in two patients with Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson syndrome. *Am J Med Genet A.*, 2013, 161(4), 884-888.
- [15] *Molnár Zsuzsanna, Mokánszki Attila, Benyó Mátyás, Kassai Zsuzsa, Oláh Éva, Jakab Attila*: Sperm fertilization potential and chromosomal anomalies in testicular cancer before chemotherapy. *Human Reproduction* 26:(2011) p. i253. (2011)
- [16] *Mokánszki Attila, Ujfalusi Anikó, Balogh Erzsébet et al.*: Az Y-kromoszóma mikrodelécióinak és parciális mikrodelécióinak vizsgálata idiopátiás infertilitásban. *Magyar Andrológia* 17:(1) pp. 17-21. (2012)
- [17] *Mokánszki Attila, Molnár Zsuzsanna, Ujfalusi Anikó et al.*: Correlation study between sperm concentration, hyaluronic acid-binding capacity and sperm aneuploidy in Hungarian patients. *Reproductive Biomedicine Online* 25:(6) pp. 620-626. (2012)
- [18] *Mokánszki Attila, Ujfalusi Anikó, Balogh Erzsébet et al.*: Infertilitásban végzett citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatok a kelet-magyarországi régióban. *Citogenetic and molecular genetic studies in infertility in eastern Hungary. Orvosi Hetilap* 153:(2) pp. 52-61. (2012)

- [19] *Mokánszki Attila, Ujfalusi Anikó, Balogh Erzsébet et al.*: Meiotic segregation study of a novel t(3;6)(q21;q23) in an infertile man using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Systems Biology In Reproductive Medicine* 58:(3) pp. 160-164. (2012)
- [20] *Rauch A., Hoyer J., Guth S., et al.*: Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A.*, 2006, 140(19), 2063-2074.
- [21] *van Karnebeek C. D., Jansweijer M. C., Leenders A. G., et al.*: Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet.*, 2005, 13(1), 6-25.

Levelező szerző: Prof. Dr. Oláh Éva

DE OEC Gyermekgyógyászati Intézet Klinikai Genetikai Központ

4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.

E-mail: colah@med.unideb.hu

Tel: 52/255-072