

## OTKA záró beszámoló

A kromoszóma rendellenességek előfordulása mentálisan retardált betegekben átlagosan 16,1 % (4-28,4 %). Az elmúlt 50 évben a hagyományos citogenetikai és a molekuláris citogenetikai módszerek rohamos fejlődésének köszönhetően egyre több lehetőség nyílt az értelmi fogyatékoság és a fejlődési rendellenességek genetikai hátterének tisztázására. Kezdetben még csak a számbeli kromoszóma rendellenességek kimutatására volt mód, majd az 1970-es években kidolgozott sávozási (Q-, G-, R-) technika már a szerkezeti kromoszóma rendellenességek (deléciók, duplikációk stb.) felismerését is lehetővé tette. Az 1990-es években bevezetésre kerülő új módszer, a fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) segítségével a 4 MB-nál kisebb, a hagyományos citogenetikai vizsgálattal nem látható, mikrodeléciókkal és mikroduplikációkkal járó ún. „folyamatos gén” szindrómák hátterében álló finom eltérések is kimutathatóvá váltak. Továbbra is nehézséget jelentett azonban a kromoszómák génben gazdag telomerikus, szubtelomerikus régiói rejtett aberrációinak (deléció, duplikáció, transzlokáció) kimutatása, amelyek a hagyományos G-sávtechnikával – világos (negatív) festődésük miatt - nem ismerhetők fel. A kromoszómák e génben gazdag régióinak detektálására nyújt lehetőséget az 1995-ben bevezetett szubtelomerikus FISH vizsgálat. Ezzel a módszerrel a közepes és súlyos mentális retardáltak 6,8 %-ában, míg az enyhe mentális retardációk 0,5 %-ában igazoltak szubtelomerikus kromoszóma aberrációt. A kromoszómák e génben gazdag szubtelomerikus régióinak átrendeződései változatos klinikai tünet-együtteseket hozhatnak létre. Mivel a mentális retardációk közel 7%-áért felelősek, kimutatásuk diagnosztikai szempontból jelentős és a genetikai rendellenesség ismeretében végzett prenatális vizsgálat lehetőséget nyújt az ismétlődés megakadályozására is. Kimutatásukra alkalmas módszerek egyike a szubtelomerikus fluoreszcencia *in situ* hibridizáció.

A szubtelomerikus FISH vizsgálat során 41 szubtelomerikus régiót vizsgálunk, a 15 egyedi „ready-to-use” direkt jelölésű próbakeveréssel, mely valamennyi kromoszóma p és q karjának telomer régiójára specifikus próbát tartalmazza (kivéve az akrocentrikus kromoszómák -13, 14, 15, 21, 22- p karjait). A próbakeverékekben lévő CEP és LSI próbák belső kontrollként a kromoszómák azonosítására szolgálnak. A szubtelomerikus FISH vizsgálat költség- és munkaigényes, ezért a betegek megfelelő kiválasztása kulcsfontosságú. Ugyanakkor, ha túl szigorú szelekciós kritériumokat alkalmazunk, a pozitív esetek egy része felismeretlen marad. A nemzetközi irodalomban publikált több ezer esettanulmány lehetővé tette, hogy bizonyos szindrómák, mint pl. 1p36 deléziós szindróma fenotípusa egyre jobban körvonalazódjon és a klinikai genetikusok számára egyre inkább felismerhetővé váljon. A szubtelomerikus aberrációk fenotípusos jellemzőinek megismerésével lehetőség nyílik egyre több **célzott FISH vizsgálat** elvégzésére. Ennek hiányában valamennyi szubtelomerikus régió vizsgálatát el kell végezni, a tapasztalat alapján kialakult gyakorisági sorrendben. A szubtelomerikus kromoszóma eltérések fele familiáris eredetű, azaz az egyik szülő kiegyensúlyozott transzlokáció hordozó. A meiosis során a kromoszómák szegregációjának következtében parciális deléciók, duplikációk alakulhatnak ki. A fenotípust a deletált és duplikálódott gének együttesen határozzák meg. Az irodalom szerint az utódokban inkább a deléziós fenotípus a penetráns és meghatározó, de a klinikai kép az egyes esetekben nagy változatosságot mutathat.

Munkánk során olyan közepes és súlyos értelmi fogyatékosok szubtelomerikus FISH vizsgálatát végeztük el, akiknél a hagyományos kromoszóma vizsgálat normális kariotípust igazolt és egyéb célzott genetikai vizsgálat sem utalt ismert genetikai kórképre (Fragilis-X szindróma, microdeléziós szindróma stb.) fennállására. A betegek kiválasztásakor a nemzetközi irodalomban javasolt szelekciós kritériumokat használtuk (1). Major kritériumok: 1/. hagyományos G-sáv technikával normális kariotípus (350-450 sáv), 2/. közepes vagy

súlyos mentális retardáció (IQ <50, Brunet-Lezine score). Minor kritériumok: 1/. legalább két arcrégiót érintő dysmorphia, 2/. veleszületett szervi rendellenesség, 3/. pre-és/vagy posztnatálisan észlelhető növekedési zavar, 4/. magatartászavarok, 5/. családban mentális retardáció előfordulása, 6/. az anamnézisben perinatális halálozás, spontán vetélés. A vizsgálat indikációjához két major és három minor kritérium jelenléte szükséges.

- Összesen 116 szubtelomerikus FISH vizsgálatot végeztünk, ebből 97 értelmi fogyatékos beteg volt és 19 egészséges hozzátartozó. A 97 mentálisan retardált beteg közül 9 esetben (9.2 %) mutattunk ki szubtelomerikus aberrációt, a 19 egészséges hozzátartozó vizsgálata során pedig 6 kiegyensúlyozott transzlokáció hordozást igazoltunk. A 9.2 %-os találati arány az irodalmi adatokkal összevetve jónak mondható (átlagosan: 6.8 %), de a betegszelektációs kritériumok finomításával növelhető a találati arány (2). **Minden kromoszóma szubtelomerikus régióját** 53 esetben vizsgáltuk, melyből 5 esetben pozitív, 48 esetben negatív eredményt kaptunk. A pozitív esetekben az alábbi eltéréseket igazoltuk: 1. der(8)t(8;12)(pter-,pter+)pat (2 beteg); 2. ish subtel der(21)t(10;21)(pter+,qter-)mat (1 beteg); 3. ish der(4) t(4;8)(pter-;qter+)pat (1 beteg); 4. ish subtel del(3pter)dn. Esetenként mentálisan retardált betegek **célzott FISH** vizsgálatára is sor kerülhetett, ami **meghatározott kromoszómák szubtelomerikus régióinak** vizsgálatát jelenti. Célzott vizsgálatra 44 esetben került sor, 4 esetben pozitív, 40 esetben negatív eredménnyel. A célzott vizsgálatok indikációi: 1. pozitívnak bizonyult mentálisan retardált betegek családtagjaiban, a már ismert eltérés kimutatása: ish subtel der(21)t(10;21)(pter+,qter-)mat (2 beteg) 2. fenotípusos jellemzők alapján felmerülő szubtelomerikus deléciós szindróma gyanúja: del(1qter), del(1pter), del(5q35), del(18pter), del(22qter), del(8qter), del(3pter), del(4pter). A célzott vizsgálatok (pl. az 1pter deléciós szindróma kimutatása) bevezetése a fenotípusosan jól jellemezhető szindrómák esetében – a felesleges vizsgálatok elkerülésével - lehetővé teszi a vizsgálatok

költség-hatékonyságának növelését. Az 1p36 deléziós szindróma az egyik leggyakoribb szubtelomerikus kromoszóma eltérés, melyet a közepes/súlyos mentális retardáció, jellegzetes arcdysmorphia, izomhypotonia, obesitás és epilepszia jellemez. A klinikai tünetek gyakran átfedést mutatnak a Prader-Willi (PW) szindróma jellemzőivel, ezért célzott vizsgálatainkat olyan betegek vizsgálatára terjesztettük ki, akiknél a PW-szindróma specifikus FISH (15q11.2 régió), az uniparentális diszómia és metilációs vizsgálatok negatív eredményt mutattak (3). Az 1pter régió szubtelomerikus FISH vizsgálatát 20 PW-re gyanús betegnél végeztük el, két esetben igazoltuk az 1pter régió delécióját.

- A pozitív esetekben a pontosabb genotípus-fenotípus összefüggések megállapításához, az átrendezésben érintett gének azonosításához szükséges a töréspontok pontos megállapítása, mely hazai és külföldi laboratóriumokban történik. A 3qter deletált régió töréspontjának azonosítása Portugáliában, Dezső Dávid genetikus laboratóriumában jelenleg folyamatban van.

Az ish subtél der(21)t(10;21)(pter+,pter-) familiáris esetben oligo-array CGH vizsgálatot végeztünk külföldi kollaborációban (University of Amsterdam, Academic Medical Center, Dept. Clinical Genetics), melynek során 6.7 Mb nagyságú disztális duplikációt mutattunk ki a 10p15.3-p14 régióban és 5.6 Mb disztális deléciót a 21q22.2-22.3 régióban. A három rokon betegnél észlelt fenotípusos jellemzők a közepes fokú mentális retardáció, megkésett pszichomotoros - és beszédfejlődés, izomhypotonia, arc dysmorphia, thenar atrophia, szívfejlődési rendellenesség, scoliosis, kyphosis, patella sublúxió és agyi fejlődési rendellenesség. A 10p15.3-p14 duplikálódott régióban lokalizálódó 21 érintett génből, az OMIM adatbázis szerint, 2 gén (*AKRIC2*, *IL2RA*) esetében számoltak be fenotípusos összefüggésről. A 21q22.2-q22.3 deletálódott régióban 56 gén érintett, ebből 16 esetében (*TMPRSS3*, *NDUFV3*, *CBS*, *U2AF1*, *CRYAA*, *CSTB*, *TRAPPC10*, *AIRE*, *PFKL*, *TRPM2*,

*ITGB2, COL18A1, COL6A1, COL6A2, FTCD, PCNT*) írtak le klinikai vonatkozást. Elképzelhető, hogy esetünkben a fenotípusos jellemzők közül a kötőszöveti gyengeségből adódó tünetek a COL6A1 és COL6A2 gének ill. az általuk kódolt fehérjék csökkent funkciójával hozható összefüggésbe. Mindez csupán feltételezés, a génexpresszió illetve génfunkció megváltozására irányuló vizsgálatokat nem végeztünk.

Tapasztalataink alapján hangsúlyozzuk, hogy minden olyan esetben, amikor többszörös fejlődési rendellenesség mentális retardációval társul és a hagyományos citogenetikai vizsgálattal normális kariotípust vagy nem egyértelmű eredményt (pl.: marker kromoszóma) kapunk, kiegészítő molekuláris citogenetikai vizsgálatok pl.: mikrodélációs FISH, szubtelomerikus FISH, mFISH elvégzése szükséges.

Számos elvégzett vizsgálat lehetővé tette bizonyos szubtelomerikus régiókhoz tartozó tünet együttesek megismerését, új szindrómák leírását. A leggyakrabban előforduló szindrómák pl.: del(1pter), del(1qter), del(2qter), del(22qter). A genotípus-fenotípus összefüggések megismerése a fenotípusos jellemzők pontos leírása lehetővé teszi a próba panelek célzottabb megválasztását (költség/haszon) és a nagyobb találati arány elérését. A pozitív esetekben, a töréspontok azonosításához, az érintett gének feltérképezéséhez oligo array-CGH vizsgálat alkalmazása szükséges, melyek bevezetése újabb kihívást jelent a genetikusok számára. A jelenleg már Debrecenben is elérhető módszer lehetővé teszi, hogy a vizsgálataink során talált eltéréseket a jövőben e módszer segítségével – külföldi kollaboráció nélkül – pontosítani tudjuk. Remélhető, hogy a molekuláris genetikai technikák fejlődésével egyre kevesebb esetben találkozunk tisztázatlan háttérű genetikai betegségben szenvedő gyermekkel és egyre ritkábban állunk tehetetlenül az érintett családok veszélyeztetett terhességei előtt. Az értelmi fogyatékoság genetikai háttérének tisztázásával familiáris esetekben a kiegyensúlyozott transzlokáció hordozó szülők és családtagok következő terhessége esetén

megakadályozhatjuk újabb beteg gyermek születését, az egyébként is gondozási, ápolási és pszichés teherrel sújtott családokban.

### **Irodalomjegyzék**

1. *Lam, A.,C.,F., Lam, S.,T.,S., Lai, K.,K.,S. és mtsai:* High rate of detection of subtelomeric aberration by using combined MLPA and subtelomeric FISH approach in patients with moderate to severe mental retardation. *Clin. Biochem.*, 2006, 39 (3), 196-202.
2. *Flint, J., Wilkie, A.,O., Buckle, V.,J. és mtsai:* The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat. Genet.*, 1995, 9, 132-140.
3. *D'Angelo C.S., Da Paz J.A., Kim C.A., Bertola D.R., Castro C.I., Varela M.C., Koiffmann C.P.:* Prader-Willi-like phenotype: investigation of 1p36 deletion in 41 patients with delayed psychomotor development, hypotonia, obesity and/or hyperphagia, learning disabilities and behavioral problems., *Eur. J. Med.Genet.*, 2006, 49(6), 451-460.

**Eredményeinkről a következő konferenciákon tartott előadásokban számoltunk be:**

1. P. Szabó Gabriella, Bessenyei Beáta, Szakszon Katalin, Ujfalusi Anikó, Balogh Erzsébet, Oláh Éva: **Szubtelomerikus kromoszóma átrendeződések kimutatása mentálisan retardált betegekben**

Magyar Klinikai Neurogenetikai Társaság VIII. Konferenciája Visegrád, 2009.12.4-5.

2. P. Szabó Gabriella, Bessenyei Beáta, Szakszon Katalin, Ujfalusi Anikó, Balogh Erzsébet, Oláh Éva

**Szubtelomerikus kromoszóma átrendeződések kimutatása mentálisan retardált betegekben**

Magyar Gyermekgyógyász Társaság Észak-Kelet Magyarországi Szakcsoport Terület Szervezetének Kongresszusa, Debrecen, 2010.05. 5-7.

3. P. Szabó Gabriella, Szakszon Katalin, Ujfalusi Anikó, Bessenyei Beáta, Balogh Erzsébet, Oláh Éva

**1p36 deléció kimutatása Prader-Willi szindróma tüneteit mutató betegekben**

Magyar Humán genetikai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2010-szept. 2-4.

4. Gabriella P. Szabó, Alida C. Knegt, Erzsébet Balogh, Szakszon Katalin, Ujfalusi Anikó, Oláh Éva

**Subtelomeric study of 65 Hungarian patients with idiopathic mental retardation, facial dysmorphism and/or congenital anomalies**

8th European Cytogenetics Conference, Porto, 2011.07. 2-5.

**Eredményeinkről a következő közleményben számoltunk be:**

P. Szabó G., Bessenyei B., Ujfalusi A., Balogh E., Szakszon K., Oláh É.: Szubtelomerikus kromoszóma átrendeződések kimutatása idiopathiás mentális retardációban

**Orvosi Hetilap, 151, (27), p. 1091-1098. July 2010.**

G. P. Szabó, A. C. Knegt, A. Ujfalusi, E. Balogh, T. Szabó, É. Oláh: **Subtelomeric 6.7 Mb trisomy 10p and 5.6 Mb monosomy 21q detected by FISH and array-CGH in three related patients**

*(Am J Med Genet, revízió alatt)*