

A *SHOX* géndeletio előfordulása idiopathiás alacsonynövésben

Multicentrikus tanulmány

Dávid Anna dr.^{1, 10} ■ Butz Henriett dr.^{1, 2, 5} ■ Halász Zita dr.³
Török Dóra dr.⁴ ■ Nyirő Gábor dr.⁵ ■ Muzsnai Ágota dr.⁶
Csákváry Violetta dr.⁷ ■ Luczay Andrea dr.³ ■ Sallai Ágnes dr.⁴
Hosszú Éva dr.⁴ ■ Felszeghy Enikő dr.⁸ ■ Tar Attila dr.⁹
Szántó Zsuzsanna dr.¹⁰ ■ Fekete Gy. László dr.¹⁰ ■ Kun Imre dr.¹⁰
Patócs Attila dr.^{2, 11} ■ Bertalan Rita dr.¹²

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹II. Belgyógyászati Klinika,

²Laboratóriumi Medicina Intézet, ³I. Gyermekgyógyászati Klinika, ⁴II. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

⁵Magyar Tudományos Akadémia–Semmelweis Egyetem, Molekuláris Medicina Kutatócsoport, Budapest

⁶Szent János Kórház és Észak-budai Egyesített Kórházak, Budapest

⁷Markusovszky Egyetemi Oktatókórház, Szombathely

⁸Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Debrecen

⁹Heim Pál Gyermekkórház, Budapest

¹⁰Marosvásárhelyi Orvostudományi és Gyógyszertudományi Egyetem, Marosvásárhely

¹¹Magyar Tudományos Akadémia–Semmelweis Egyetem,

„Lendület” Örökletes Endokrin Daganatok Kutatócsoport, Budapest

¹²Csolnoky Ferenc Kórház, Veszprém

Bevezetés: A *SHOX* gén izolált haploinsufficienciája az alacsonynövést okozó monogénes elváltozások leggyakoribb oka. A gén heterozigóta eltérése az idiopathiás alacsonynövés (ISS) diagnosztizált betegek 2–15%-ában, Leri–Weill-dyschondrosteosis szindróma (LWS) 50–90%-ában, valamint a Turner-szindrómában szenvedők csaknem 100%-ában igazolható.

Célkitűzés: A *SHOX* gén haploinsufficienciája gyakoriságának meghatározása ISS-sel és LWS-sel diagnosztizált, valamint Turner-fenotípusú, de normális karyotípussal rendelkező betegek (TF) körében, valamint beazonosítani a *SHOX* géneltéresre jellemző dysmorphiás jeleket.

Módszer: Összesen 144 betegben került sor a *SHOX* gén haploinsufficiencia-vizsgálatára multiplex ligációs próba Amplifikáció (MLPA) módszerrel. A betegek klinikai adatai (auxológiai paraméterek, csontrendszeri rendellenességek, dysmorphiás tünetek) és a pozitív genotípus közötti összefüggéseket statisztikai módszerekkel elemezték.

Eredmények: A vizsgált 144 betegből 11 (7,6%) esetében igazolódott *SHOX* génelterés, női dominanciával (8/11, 81%). A *SHOX*-pozitív betegeknek szignifikánsan magasabb volt a testtömegindexe (BMI) (5/11-ből vs. 20/133-ból mutatott emelkedett értéket, $p < 0,02$), és gyakoribbak voltak a dysmorphiás tünetek (9/11 vs. 62/133, $p = 0,02$). A felső végtagokon megjelenő Madelung-deformitás *SHOX*-pozitív betegek között szintén szignifikánsan gyakrabban fordult elő (4/11, 36% vs. 14/133, 10%, $p = 0,0066$), mint a *SHOX*-negatívokban, de a vizsgálatkori életkor, az alacsonynövés mértéke, valamint az auxológiai mérések alapján számolt testarányok nem mutattak statisztikailag ki-mutatható különbséget a két csoport között.

Következtetések: A *SHOX* gén haploinsufficienciájának előfordulási gyakorisága a vizsgált betegpopulációnkban megegyezik az irodalmi adatokkal. *SHOX*-pozitív esetekben, az idiopathiás alacsonynövés mellett, a dysmorphiás elváltozások pozitív prediktív értékkel bírnak a *SHOX* génelváltozások fennállására. Ugyanakkor a dysmorphiás jegyet nem mutató, de genetikailag pozitív eset arra utal, hogy a *SHOX* gén vizsgálata indokolt dysmorphiás tünetet nem mutató idiopathiás alacsonynövés esetén is.

Orv Hetil. 2017; 158(34): 1351–1356.

Kulcsszavak: *SHOX* gén, idiopathiás alacsonynövés, Leri–Weill-dyschondrosteosis, MLPA

The prevalence of *SHOX* gene deletion in children with idiopathic short stature

A multicentric study

Introduction: The isolated haploinsufficiency of the *SHOX* gene is one of the most common cause of short stature determined by monogenic mutations. The heterozygous deviation of the gene can be detected in 2–15% of patients with idiopathic short stature (ISS), in 50–90% of patients with Leri-Weill dyschondrosteosis syndrome (LWS), and in almost 100% of patients with Turner syndrome.

Aim: The aim of our study was to evaluate the frequency of *SHOX* gene haploinsufficiency in children with ISS, LWS and in patients having Turner syndrome phenotype (TF), but normal karyotype, and to identify the dysmorphic signs characteristic for *SHOX* gene deficiency.

Method: A total of 144 patients were included in the study. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) method was used to identify the *SHOX* gene haploinsufficiency. The relationships between clinical data (axiological parameters, skeletal disorders, dysmorphic signs) and genotype were analyzed by statistical methods.

Results: 11 (7.6%) of the 144 patients showed *SHOX* gene deficiency with female dominance (8/11, 81% female). The *SHOX* positive patients had a significantly higher BMI (in 5/11 vs. 20/133 cases, $p < 0.02$) and presented more frequent dysmorphic signs (9/11 vs. 62/133, $p = 0.02$). Madelung deformity of the upper limbs was also significantly more frequent among the *SHOX* positive patients (4/11, i.e. 36%, vs. 14/133, i.e. 10%, $p = 0.0066$). There were no statistically significant differences between the mean age, mean height and auxological measurements (sitting height/height, arm span/height) between the two groups of patients.

Conclusions: The occurrence of *SHOX* gene haploinsufficiency observed in our population corresponds to the literature data. In *SHOX* positive patients, in addition to short stature, the dysmorphic signs have a positive predictive value for *SHOX* gene alterations. However, the *SHOX* deletion detected in a patient with idiopathic short stature without dysmorphic signs suggest that *SHOX* deletion analysis can be recommended in patients with ISS.

Keywords: *SHOX* gene, idiopathic short stature, Leri-Weill dyschondrosteosis, MLPA

Dávid A, Butz H, Halász Z, Török D, Nyiró G, Muzsnai Á, Csákváry V, Luczay A, Sallai Á, Hosszú É, Felszeghy E, Tar A, Szántó Zs, Fekete Gy L, Kun I, Patócs A, Bertalan R. [The prevalence of *SHOX* gene deletion in children with idiopathic short stature. A multicentric study]. *Orv Hetil.* 2017; 158(34): 1351–1356.

(Beérkezett: 2017. június 20.; elfogadva: 2017. július 13.)

Rövidítések

BMI = testtömeg index; ISS = idiopáthiás alacsonynövés; LS = Langer-szindróma; LWS = Leri-Weill dyschondrosteosis-szindróma; MLPA = multiplex ligációs próba amplifikálás; NS = nem szignifikáns; PARI = X (Xp22.3) és Y (Zp11.3) kromoszómák pszeudoautoszómális régiója; *SHOX* gén = az X kromoszómán elhelyezkedő alacsonynövésért felelős homeobox gén; SD = standard deviáció; TF = Turner fenotípusú, de normális karyotypusú betegek

A *SHOX* gén izolált haploinsufficienciája az alacsonynövést eredményező monogénes elváltozások leggyakoribb oka [1]. A *SHOX*-eltérés okozta klinikai kép súlyossága változó, az egyéb tünetet alig mutató alacsonynövéstől a csontrendszer kifejezett érintettségével járó fenotípusig. A fenotípus heterogenitására utal az a megfigyelés is, hogy az azonos mutációval rendelkező családtagok között is nagy különbség lehet a klinikai jelek megléte, illetve súlyossága tekintetében [2, 3].

A *SHOX* gén hibáinak előfordulási gyakorisága 1:2000–5000 újszülött, és a női dominancia jellemzi. A gént 1997-ben, egymástól függetlenül fedezte fel két kutatócsoport [4]. A 40 kb hosszúságú *SHOX* gén a hu-

mán genomban az X- (Xp22.3) és Y- (Zp11.3) kromoszómák pszeudoautoszómális régiójában (PARI), a nemi kromoszómák telomerjeitől 500 kb-nyi távolságra található [5–8]. Elhelyezkedésének köszönhetően elkerüli az X-kromoszóma inaktiválódását, így a hibáihoz tartozó betegségek öröklődésmentére a pszeudoautoszómális mód jellemző [9], ezért a gén kifejeződésének mértéke a férfi és a női szervezetben megegyezik.

A gén heterozigóta eltérését idiopáthiás alacsonynövésben (ISS) szenvedők 2–15%-ában, Leri-Weill-dyschondrosteosis szindrómás (LWD) betegek 50–90%-ában lehet kimutatni. Utóbbi kórkép markáns tünete az úgynevezett Madelung-deformitás. A Turner-szindrómára jellemző kromoszómaeltérés miatt a *SHOX*-deficiencia a betegek csaknem 100%-ában kimutatható [1, 4, 10, 11]. A *SHOX* gén homozigóta eltérése a Langer-szindrómát (LS) eredményezi, amely egy rendkívül ritka és súlyos tünetegyüttes, jelentős növekedési elmaradással és az ulna, illetve fibula hypo- és/vagy aplasiájával társul. Génmultiplikáció esetén, például Klinefelter-szindrómában (a nemi kromoszómák triszómiája, rendszerint 47,XXY karyotypussal) a betegekre általában a magas termet jellemző, alátámasztva részben a *SHOX* növekedésre kifejtett dóziszfüggő hatását [12].

A *SHOX* gén kezdeti leírása hat exont tárt fel, amelyek két alternatíván összeillesztett másolatot kódolnak: a *SHOXa*-t és a *SHOXb*-t. A két másolat az 5. exonig teljesen azonos, csak az utolsó exonban (6a és 6b) különböznek [4, 8]. A 3. és 4. exonok a homeoboxot kódoló régiók. A homeobox által kódolt homeodómén a specifikus DNS-kötődésért és a transzaktivációs képességért felelős. A *SHOXa* a vázizomban, placéntában, szívben, csontvelői kötőszövetben, a növekedési porclemezek chondrocytaiban, míg a *SHOXb* a magzati vesében, placéntában és a csontvelői kötőszövetben található meg az intrauterin élet során [13]. A *SHOX* gén genomszerkezete az újabb kutatások alapján négy exonnal (2a, 7-1, 7-2 és 7-3) bővült, amelyek eltérő *SHOX*-izoformákat kódolnak [8].

A *SHOX* gén terméke a Shox fehérje, amely egy magfehérje, a DNS-hez kötődve, transzkripciósi faktorként fejt ki hatását. A génről történő expresszió már a 33. gesztációs napon kimutatható a humán embrió szöveteiben, legnagyobb mennyiségben az első és második garatívben és a végtagbimbók középső részén. Az embrionális élet során a Shox fehérje elsősorban a chondrocytáiban expresszálódik, és segíti ezeknek a sejteknek a differenciálódását, de a proliferációjukat gátolja [3]. Leri-Weill-dyschondrosteosis szindrómában szenvedő betegek radiusepiphysiséből származó porcszövetén végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a kórosan hipertrofizált chondrocyták, oszlopszerű elrendeződés helyett, fészkeket alkotnak; ezek a csontokban lejátszódó kóros folyamatok magyarázhatják a növekedés elmaradását, valamint a dysmorfhiás tünetek kialakulását az érintett betegekben [3, 14].

A multiplex ligációs próba amplifikáció (MLPA) jelenleg a leginkább ajánlott molekuláris genetikai módszer a *SHOX* gén deletiójának szűrésére. Ez képes kimutatni az exonok, teljes gének vagy hosszabb kromoszomális régiók számbeli eltéréseit, és a génen belül található deletiók pontos feltérképezését is lehetővé teszi. Ilyen típusú génhibát az érintettek körülbelül 70–75%-ában lehet igazolni. Az MLPA reakcióelegye több próbát tartalmaz, amelyek biztosítják a teljes *PARI* és *SHOX* genomiális régió felmérését egyetlen vizsgálat keretében [1, 8].

Munkánk célja az volt, hogy felmérjük a *SHOX*-elégelenség előfordulási gyakoriságát döntően hazai, de részben a Marosvásárhelyi Orvostudományi Egyetem gondozásában álló erdélyi betegek körében, és a genetikai vizsgálatok elvégzésével a *SHOX* géneltézésre jellemző fenotípusjegyeket beazonosítsuk.

Betegek és módszer

Összesen 144 beteg vizsgálatára került sor 2013–2017 között. A vizsgálatba olyan alacsonynövésű betegeket vontunk be, akiknél a klinikai kép alapján ISS-t (91, azaz 63%), LWD-t (öt, vagyis 3,4%) vagy TF-et (48, azaz 33%) diagnosztizáltak. A diagnózist minden esetben gyermekendokrinológus állította fel a klinikai kép, a radi-

ológiai eltérések, illetve a laboratóriumi vizsgálatok alapján.

Az alacsonynövés diagnózisának a populáció, életkor, nem és etnikai csoport átlagmagasságánál két standard deviációval kisebb (SD) vagy a 3 percentilis görbe alatti testmagasságot mutató esetek feleltek meg.

ISS esetén a standard diagnosztikai eljárásokkal táplálkozási, hormonális zavarok, szisztémás megbetegedések és kromoszóma-rendellenességek kizárhatóak voltak.

Az LWD diagnózis felállításához az alábbi paraméterek közül minimum kettő jelenléte volt szükséges: 1. alacsonynövés, a testmagasság <-2 SD; 2. Madelung-deformitás; 3. a karok mesomelicus rövidülése [15].

Mind egyik betegnél regisztráltuk az életkor mellett az auxológiai paramétereket (testmagasság, ülőmagasság, testtömeg, a karok fesztávolsága) és a dysmorfhiás tüneteket (Madelung-deformitás, cubitus valgus, scoliosis, rövid nyak, micrognathia, gótikus szájpad, izomhipertrofia, rövid és/vagy hajlott alkar). Ugyanakkor minden betegnél meghatározásra került a *Rappold és mtsai* által javasolt pontrendszer alapján a karfesztávolság/testmagasság és az ülőmagasság/testmagasság arány. Ez a pontrendszer tartalmazza még a testtömegindexet, a könyök valgusállását, a rövid alkart, a hajlott alkart, az izomhipertrofiát és az ulna könyöki dislocációját is. A pontrendszer alapján a *SHOX* gén vizsgálata javasolt minden olyan idiopathiás alacsonynövésű betegnél, akinél a kiszámított összpontszám meghaladja a 4-et [16].

A genetikai vizsgálatra történő mintavételre a betegek törvényes képviselője által aláírt beleegyező nyilatkozat után került sor. A genetikai tanácsadás minden esetben a vizsgálat részét képezte.

Molekuláris genetikai vizsgálatok

A DNS-izolálás perifériás vérből történt, Roche vagy Qiagen izolálókitekkel, a gyártók utasításai szerint. A DNS mennyiségét és minőségét agaróz gélelektroforézissel és spektrofotométerrel ellenőriztük.

A genetikai vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem, II. Számú Belgyógyászati Klinika Endokrin Genetikai Laboratóriumában végeztük el. 100 ng genomiális DNS-t a SALSA P018 MLPA (MRC-Holland, Amszterdam, Hollandia) kit forgalmazója által megadott protokollnak megfelelően vizsgáltuk meg. A 48 próbát/primereket tartalmazó SALSA MLPA probemix P018 *SHOX* kitben 26 próba a *SHOX* + Xp22 régiót (a *SHOX* és szabályozó területeit), 13 próba az X-kromoszóma egyéb régióit és kilenc próba, mint referenciafragmenseket, az autoszomális kromoszómákat mutatja ki [17]. Az eljárás során az MLPA-reakcióban található próbák egy 16 órán át tartó hibridizációval kötődnek be a célzott genomi régiók specifikus szakaszaihoz. A próbáknál ligációt követően kerül sor egy PCR-reakcióra. A reakcióelegyben összesen 48 különböző hosszúságú fragment keletkezik, amelyeket kapilláris elektroforézissel választanak el egymástól. A különböző méretű termékek, a gyártó adatai

alaján, a különböző kromoszómaszakaszokra specifikusak. Az elektroforézis ABIPrism 310 vagy 3130-as készüléken történt (Life Technologies, Carlsbad, California, Amerikai Egyesült Államok).

A vizsgálat során egyszerre több minta került mérésre, és a mérés validálásához minden esetben megtörtént a biztosan pozitív, valamint a biztosan negatív esetek vizsgálata is [18, 19]. Pozitív, vagyis *SHOX*-haploinsufficienciát biztosan hordozó betegek a karyotipizálással igazolt Turner-szindrómás páciensek közül kerültek ki. *SHOX*-haploinsufficienciát biztosan nem mutató negatív kontrollként egy-egy átlagos testmagasságú kontroll nő és -férfi szolgált.

A mérés során a kapilláris elektroforézissel meghatározott fragmensek, amelyek az adott régióra specifikus szakaszokat jelentik, csúcsintenzitásait egy Excel táblázatba összesítettük, majd elvégeztük az MLPA-t gyártó cég ajánlásának megfelelően a statisztikai értékelést. A mintákon belül a referens gének jelintenzítására vonatkoztattuk a *SHOX*-régió jelintenzitásait, majd a betegek és kontrollegének között kiszámoltuk a génspecifikus csúcsintenzitások hányadosát. Haploinsufficienciát mutató esetekben az adott régióra specifikus próba jelintenzitása a *SHOX*-deletiót mutató esetekben körülbelül 50%-a volt a normális két kópiát tartalmazó esetekhez képest. Az MLPA-reagenst gyártó cég javaslatának megfelelően a Coffeanalyser szoftvercsomaggal is elvégeztük az analízist (<http://support.coffalyser.com/>), ami minden esetben megegyezett a saját mérés eredményével.

Eredmények

A 144 betegből 11 (7,6%) esetében igazolódott a *SHOX* gén haploinsufficienciája (1. táblázat). A 11 *SHOX* génhiba közül öt esetben a gén teljes, míg hat esetben annak részleges deletiója igazolódott. A *SHOX*-pozitív betegek esetében a családtagok (anya, apa, testvérek) vizsgálata során *SHOX* géndeletio nem igazolódott, ami arra utal, hogy mind a 11 betegben az eltérés *de novo* alakult ki.

A *SHOX* gén deletiójának gyakorisága az ISS-betegekben 5,4%, az LWS-es betegekben 40%, míg a TF-betegeknél 8,3% volt. A 11 pozitív esetből a feltételezett kórisme öt (46%) esetben ISS, két (18%) esetben LWS és négy esetben (36%) TF volt.

1. táblázat | *SHOX*-haploinsufficienciát hordozó betegek diagnózis szerinti megoszlása

	<i>SHOX</i> -pozitív	<i>SHOX</i> -negatív	Összes beteg	
Esetszám	11	133	144	
ISS	5 (46%)	86 (64%)	91 (63%)	p = 0,21
LWS	2 (18%)	3 (2,25%)	5 (3,4%)	p = 0,04
TF	4 (36%)	44 (33%)	48 (33%)	p = 1,00

ISS = idiopathiás alacsony növés; LWS = Leri-Weill-dyschondrosteosis szindróma; TF = Turner-fenotípusú, de normális karyotípusú betegek

A genetikai vizsgálat eredménye alapján a betegeket két csoportra osztották: a *SHOX*-pozitív és a *SHOX*-negatív betegek csoportjára. Beteganyagunkban a *SHOX*-pozitív és a *SHOX*-negatív páciensek átlagéletkora (9,9 év vs. 10,3 év) és az alacsonynövés mértéke (-2,91, illetve -2,80 SD) hasonló volt. A 11 pozitív esetből kilenc (81%) lány és két (19%) fiú volt.

A 11 *SHOX*-pozitív betegből ötnél (45%) találtak magasabb BMI-t, míg a *SHOX*-negatív betegek esetében ez az arány kisebb volt (20/133 eset, 15%, p<0,02).

A *SHOX*-pozitív betegeknek jelentősen több klinikai tünetük volt, mint a *SHOX*-negatív pácienseknek: 81%-uknak volt legalább egy dysmorfhiás tünete, míg a *SHOX*-negatív betegekben ez az arány 46% (p = 0,02) volt. A Madelung-deformitás előfordulása is gyakoribb volt a *SHOX*-pozitív (36%), mint a *SHOX*-negatív esetekben (10%) (p = 0,0066). A dysmorfhiás tünetek szignifikánsan gyakoribb előfordulása *SHOX*-pozitív betegeknel főként a felső végtagokon volt észlelhető (Madelung-deformitás, rövid alkar, hajlott alkar, rövid kezek és cubitus valgus). Az alsó végtagok eltérései (rövid lábszárak, hajlott comb), valamint gótikus szájpád, scoliosis és izomhipertrófia is gyakrabban van jelen a *SHOX*-pozitív betegeknel, de statisztikailag ez a különbség nem volt kimutatható.

Az auxológiai mérések alapján számolt testarányok (ülőmagasság/testmagasság, karfesztávolság/testmagasság) átlagértékei nem mutattak statisztikailag kimutatható különbségeket.

Ezeket a testméretekből számolt arányokat külön elemeztük az ISS-sel diagnosztizált betegeknel, de szignifikáns különbségeket ebben az alcsoportban sem tudtunk kimutatni (2. táblázat). *SHOX*-pozitív ISS esetén négy (36%) betegben volt az ülőmagasság/testmagasság aránya <0,55, míg a *SHOX*-negatív betegeknel ez az arány a statisztikai szignifikanciát nem elérő módon, de kisebb volt: 30/133 (22%, p = 0,28).

A *Rappold és mtsai* által kidolgozott pontszám a *SHOX*-pozitív betegekben magasabb volt, mint a *SHOX*-negatívokban (11,5 pont vs. 6 pont, p<0,05). *Rapport* tanulmánya szerint a *SHOX*-elégtelenség kimutatására (a pozitív genetikai eredményre) a négyet meghaladó pontszám érzékenysége 74% és specificitása 60% volt.

Kutatásainkat Magyarországon kívül Erdély gyermek-endokrinológiai centrumaira (Marosvásárhely, Sepsiszentgyörgy, Udvarhely, Csíkszereda) is kiterjesztettük, így komparatív adatokat nyerhettünk a két vizsgált populációra vonatkozóan. A 144 megvizsgált betegből 18 származott Erdélyből, és közülük egy (5,5%) páciens hordozta a *SHOX* gén részleges deletióját (a 4. és az 5. exonok voltak érintettek). A *SHOX* gén deletiójának előfordulási gyakorisága nem tért el a két különböző régióból származó betegcsoportban (7,9% a magyarországi, 5,5% a romániai csoportban).

2. táblázat | *SHOX*-haploinsufficienciát hordozó és nem hordozó betegek nem, életkor, magasság és dysmorphiás jelek szerinti megoszlása a klinikai diagnózis függvényében

	<i>SHOX</i> -pozitív	<i>SHOX</i> -negatív	Összes esetszám %-a	Különbség
Női nem (%), 109 beteg	9 (81%)	100 (75%)	109 (75%)	NS
Életkor (év)	9,9	10,3	144 (100%)	NS
Magasság (SDS)	-2,91 SDS	-2,80 SDS	144 (100%)	NS
Madelung-deformitás (%)	4 (36%)	14 (10%)	18 (12,5%)	p = 0,0066*
Karfesztávolság/testmagasság	3 (27%)	22 (16%)	25 (17%)	NS
Ülőmagasság/testmagasság	4 (36%)	30 (22%)	34 (23%)	NS
BMI	5 (45%)	20 (15%)	25 (17%)	p<0,02*
Legalább egy dysmorphiás tünet	9 (81%)	62 (46%)	71 (49%)	p = 0,02*

BMI = testtömegindex; NS = nem szignifikáns; SD = standard deviáció; *szignifikáns

Megbeszélés

Tanulmányunk célja volt a *SHOX*-elégtelenség előfordulási gyakoriságának felmérése magyarországi és erdélyi populációban, valamint a genotípus-fenotípus kapcsolatának vizsgálata. A *SHOX*-elégtelenség változó fenotípusú alacsony termethez vezet, amely gyakran szembetűnő már az iskoláskor előtt is. *SHOX*-pozitív betegeinkben az alacsonynövés mértéke nem különbözött szignifikánsan a *SHOX*-negatív esetektől, de jelentősen több dysmorphiás jelet mutattak.

A hazai és az erdélyi beteganyagban ez az előfordulási arány szinte megegyezett az irodalomban leírt adatokkal, mivel az ISS-betegek 5,4%-ánál (versus 2–15%), az LWD-betegek 40%-ánál (versus 50–90%), míg a TF-fenotípusú betegek 8,3%-ánál volt *SHOX*-deletio kimutatható. *SHOX*-pozitív betegek családtagjaiban nem volt jelen az adott családban igazolt *SHOX* géndeletio, ami arra utal, hogy a betegek jelentős részében a *SHOX*-vesztés *de novo* alakul ki. Természetesen a betegek családalapításkor az igazolt génhibát tovább örökíthetik [13].

Vizsgálataink szerint a *SHOX* géndeletio gyakoribb volt lányokban, ami megfelel az irodalmi adatoknak. Ennek pontos oka nem ismert, de magyarázatul szolgálhat az a tény, hogy az X-kromoszóma rövid karjának a deletiója gyakoribb, mint az Y-kromoszóma hasonló elváltozása. A klinika kép nőknél rendszerint súlyosabb, mint férfiaknál, ez a nők magasabb ösztrogénszintjével magyarázható, és ez lehet az egyik oka a csontrendszeri eltérések súlyosbodásának serdülőkorban az érintett nőbetegeknél [3].

A *SHOX*-elégtelenségre jellemző klinikai tünet lehet a Madelung-deformitás, amikor a megrövidült és hajlott radius a distalis ulna dorsalis dislocációját okozza. Betegpopulációnkban a Madelung-deformitás a *SHOX*-pozitív betegek jelentős százalékánál (40%) jelen volt, de hiányzott a *SHOX*-negatív betegek többségénél (10%), alátámasztva azt a megfigyelést, hogy ez a tünet viszonylag specifikus, de nem kötelező indexe a *SHOX*-elégtelenségnek. Egy másik tanulmány megállapította, hogy a Madelung-deformitás felismerése jelentősen növekszik

akkor, ha az alkarról röntgenfelvételt is készítenek [15], így az egészen korai és enyhébb mértékű deformitások is kimutathatók. Fontos azonban megjegyezni, hogy az LWS-re jellemző csontdeformitásokat lányoknál 10, fiúknál 11 év feletti csontkor esetén lehet csak megfigyelni. A felső végtagok alaposabb kivizsgálása ISS-betegeknél segíthet azok kiválasztásában, akiknél érdemes a *SHOX* gén analízisét elvégezni.

ISS-sel diagnosztizált betegeinkben a *Rappold és mtsai* [16] által javasolt pontszám a *SHOX*-deletio jó markerének bizonyult. Ezt az auxológiai méréseken és dysmorphiás tüneteken alapuló pontszámrendszert az ilyen betegek pontos kiválasztására fejlesztették ki. A *SHOX*-pozitív betegeknél igazolt magasabb átlagérték a *SHOX*-negatívakhoz képest, indokolja ennek a pontrendszernek a bevezetését a rutin klinikai gyakorlatba.

Kutatásainkat Erdély gyermekendokrinológiai centrumaira is kiterjesztettük. Az igazolt *SHOX*-haploinsufficiencia incidenciája lényegében megegyezett a két betegcsoportban (7,9% vs. 5,5%), ami arra utal, hogy a korábbi tanulmányoknak megfelelően, Kelet-Közép-Európában a *SHOX*-deletiók jelenléte nem tér el az európai átlagtól, founder hatás nem érvényesül. Ugyanakkor egy 2015-ben közölt cikk adatai szerint Romániában, egy Kolozsvári Sürgősségi Gyermekkorház gyermekcsoportjában 2,3%-osnak találták 2012–2014 között a *SHOX* géndeletiót (a karyotípus-rendellenességek kizárása után) FISH-technikát alkalmazva [20]. A két adat közötti eltérés származhat a módszerek érzékenységből, a FISH ugyanis csak nagyobb genomialis régió vizsgálatára alkalmas (szemben az MLPA-val), de a különbséget a betegcsoportok különbözősége is magyarázhatja.

A *SHOX* gén deletiója az összes *SHOX* génhiba mintegy 75%-át jelenti, de a fennmaradó esetekben a gén pontmutációja is eredményezheti a *SHOX* inaktivációját. A pontmutációk kimutatására az MLPA-technika nem alkalmas [21], ezért Leri-Weill-szindrómás betegek esetében vagy azokban az esetekben, akikben a dysmorphiás tünetek alapján számított pontszám meghaladja a 16-ot, indokolt a gén teljes kódoló régiójának vizsgálata PCR-reakciót követő DNS-szekvenálással.

Következtetések

Összefoglalva eredményeinket, a pozitív genotípus-fenotípus összefüggések tekintetében azt tapasztaltuk, hogy a *SHOX*-pozitív betegek között sokkal gyakoribbak voltak a dysmorfhiás tünetek, főként a felső végtagokon megjelenő Madelung-deformitás. A génelteréseket hordozó betegek BMI-je szignifikánsan magasabb értékeket mutatott, mint a *SHOX*-negatív esetek BMI-je, de statisztikailag kimutatható különbség a vizsgálatkori életkor, az alacsonynövés mértéke, a karfesztaóvság/testmagasság, valamint az ülőmagasság/testmagasság átlagértékei között nem igazolható.

A nanosomia miatt végzett részletes klinikai kivizsgálás során talált ISS-, LWS-, illetve TF-betegek esetén hazánkban is elérhetővé vált a *SHOX* gén molekuláris genetikai vizsgálata. Ez lehetővé teszi a *SHOX*-anomáliák diagnózisát, és ennek alapján a genetikai tanácsadást a beteg és családja részére, valamint a megfelelő kezelés mielőbbi elkezdését is.

Anyagi támogatás: A közlemény megírása, illetve a kapcsolódó kutatómunka anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: D. A., H. Z., T. D., L. A., S. A., H. É. Cs. V., M. A., T. A., F. E., Sz. Zs., F. Gy. L., K. I., P. A., B. R.: A betegek klinikai kivizsgálása, az adatok értékelése, elemzése, a kézirat elkészítése, revíziója. D. A., B. H., Ny. G.: Az MLPA-mérések végzése, értékelése. D. A., P. A., B. R., K. I.: Az adatok elemzése, a kézirat elkészítése. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki a betegeknek és családtagjaiknak, a gyermekek szüleinek, a betegeket kezelő orvoskollégáknak a vizsgálatokban történő részvételért és a bemutatott adatok rendelkezésre bocsátásáért.

Irodalom

- Funari MF, Jorge AA, Souza SC, et al. Usefulness of MLPA in the detection of *SHOX* deletions. *Eur J Med Genet.* 2010; 53: 234–238.
- Montalbano A, Juergensen L, Roeth R, et al. Retinoic acid catabolizing enzyme CYP26C1 is a genetic modifier in *SHOX* deficiency. *EMBO Mol Med.* 2016; 8: 1455–1469.
- Bertalan R, Halász Z. Clinical utility of the *SHOX* gene investigation in short stature. [A *SHOX* gén vizsgálatának klinikai jelentősége alacsonynövésben.] *Magy Belorv Arch.* 2011; 64: 284–288. [Hungarian]
- Leka SK, Kitsiou-Tzeli S, Kalpini-Mavrou A, et al. Short stature and dysmorphology associated with defects in the *SHOX* gene. *Hormones* 2006; 5: 107–118.
- Valetto A, Bertini V, Michelucci A, et al. Short stature in isodicentric Y chromosome and three copies of the *SHOX* gene: clinical report and review of literature. *Mol Syndromol.* 2016; 7: 19–25.
- Alvarez-Mora MI, Madrigal I, Rodriguez-Revenga L, et al. A 170P mutation in *SHOX* gene in a patient not presenting with Madelung deformity. *J Clin Pathol.* 2012; 65: 844–846.
- Choi WB, Seo SH, Yoo WH, et al. A Leri-Weill dyschondrosteosis patient confirmed by mutation analysis of *SHOX* gene. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2015; 20: 162–165.
- Marchini A, Ogata T, Rappold GA. A track record on *SHOX*: From basic research to complex models and therapy. *Endocr Rev.* 2016; 37: 417–448.
- Donze SH, Meijer CR, Kant SG, et al. The growth response to GH treatment is greater in patients with *SHOX* enhancer deletions compared to *SHOX* defects. *Eur J Endocrinol.* 2015; 173: 611–621.
- Wit JM, Oostdijk W, Losekoot M, et al. Mechanisms in endocrinology: Novel genetic causes of short stature. *Eur J Endocrinol.* 2016; 174: R145–R173.
- De Sanctis V, Tosetto I, Iughetti L, et al. The *SHOX* gene and the short stature. Roundtable on diagnosis and treatment of short stature due to *SHOX* haploinsufficiency: how genetics, radiology and anthropometry can help the pediatrician in the diagnostic process Padova. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2012; 9: 727–733.
- Blum WF, Ross JL, Zimmermann AG, et al. GH treatment to final height produces similar height gains in patients with *SHOX* deficiency and Turner syndrome: results of a multicenter trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98: E1383–E1392.
- Ogata T, Matsuo N, Nishimura G. *SHOX* haploinsufficiency and overdosage: impact of gonadal function status. *J Med Genet.* 2001; 38: 1–6.
- Binder G, Rappold GA. *SHOX* deficiency disorders. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. (eds.) *Gene reviews* [Internet]. University of Washington, Seattle, WA, 2005. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301394> [accessed: December 6, 2016].
- Albuisson J, Schmitt S, Baron S, et al. Clinical utility gene card for: Leri-Weill dyschondrosteosis (LWD) and langer mesomelic dysplasia (LMD). *Eur J Hum Genet.* 2012; 20: doi: 10.1038/ejhg.2012.64.
- Rappold G, Blum WF, Shavrikova EP, et al. Genotypes and phenotypes in children with short stature: clinical indicators of *SHOX* haploinsufficiency. *J Med Genet.* 2007; 44: 306–313.
- SALSA MLPA P018 *SHOX* probemix. Product description P018-G1 *SHOX*. Available from: https://www.mlpa.com/WebForms/WebFormProductDetails.aspx?Tag=_tz2fAPIAup-KyMjaDF-E-t9bmuxqlhe_Lgqfk8Hkjuss.&ProductOID=_Z8bIMroh3s [accessed: March 25, 2017].
- Mitka M, Bednarek M, Kaluzewski B. Diagnostics of *SHOX* gene rearrangement in 46,XX women with idiopathic short stature. *Endokrynol Pol.* 2016; 67: 397–402.
- MLPA – an introduction. Available from: <https://mlpa.com/WebForms/WebFormMain.aspx?Tag=zjCZBtdOUyAt3KF3EwRZhNWLtcfv9pVl/tHJIM%5Cfa9FwO8KMqctOGIoqYwxaGf9Y> [accessed: March 25, 2017].
- Miclea DL, Al Khzouz C, Bucerzan S, et al. Assessment of the *SHOX* gene and chromosomal abnormalities by molecular and classical cytogenetics in patients with short stature. *Acta Endo (Buc).* 2015; 11: 463–469.
- Stuppia L, Antonucci I, Palka G, 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: 3245–3276.

(Patócs Attila dr.,
Budapest, Szentkirályi utca 46., 1088
e-mail: patocs.attila@med.semmelweis-univ.hu)