

**Ritka betegségek speciális genotípus-fenotípus asszociációi**

PhD értekezés tézisei

Dr. Hadzsiev Kinga

Témavezető: Dr. Melegh Béla egyetemi tanár

PTE Orvosi Genetikai Intézet

2011

## **1. Bevezetés**

A genetikai tudásanyag bővülésével egyre több betegség/betegségcsoport molekuláris patomechanizmusa kerül felismerésre. Így azonosíthatók egyrészt a gyakori, felnőttkori krónikus betegségek háttérében álló genetikai variánsok, másrészt az ún. ritka betegségek pontos diagnosztizálása és differenciáldiagnosztizálása is lehetővé válik. A ritka betegség meghatározása nem egységes, az Európai Unióban a definíció szerint a ritka betegség az életet veszélyeztető, krónikusan senyvesztő, alacsony prevalenciájú kórkép. Az alacsony prevalencia a későbbiekben 5/10000-ben lett megadva, így az EU-ban ez hozzávetőlegesen 25-30 millió érintettet jelent. Jelen ismereteink szerint 5000-8000 ritka kórkép létezik, és így a világ népességének 6-8 százalékát érinti valamelyik. A ritka betegségek 75%-a gyermekeben fordul elő, akik 30%-a nem éri meg az ötödik életévét. E betegségek általában genetikai eredetűek, egyes becslések szerint kb. 80%-ukban azonosították a genetikai hátteret. A ritka kórképek molekuláris mechanizmusainak vizsgálata jelentős hatást fejtett ki a gyakori betegségekkel kapcsolatos ismereteinkre is a kórokok felderítése, a patomechanizmusok megértése és a komplexitás megfejtése tekintetében.

## **2. Irodalmi áttekintés**

Intézetünkben néhány, országos egyedülálló molekuláris genetikai vizsgálat érhető el, ami lehetőséget ad a ritka betegségek bizonyos csoportjainak vizsgálatára

### **2.1.CDG szindróma**

A kongenitális glikozilációs defektus (CDG) az oligoszaharidok N-glikozilációs szintézisében, képződésében és processzálsban szerepet játszó 21 enzim bármelyikének hiánya miatt fellépő, abnormális oligoszaharid glikoziláció miatt kialakuló anyagcsere rendellenesség. Mivel a testfehérjéknek kb. a fele tartalmaz szénhidrát láncot és az emberi genom közel 1%-a (200-300 gén) szerepet játszik a glikozilációs folyamatokkódolásában, ezért a klinikai manifesztáció is rendkívül változatos.

A CDG diagnosztikus tesztje a transzferrin izoelektromos fókuszálás, ennek mintázata alapján különíthető el e két fő csoport: az I-es típusában az N-oligoszaharid prekurzorok szintézisének egy korábbi szakaszában, míg a II. típusban a szintézis terminális szakaszában,

az oligoszacharidok processzálásában fellépő hiba miatt alakul ki a betegség. A biokémiaileg megoldatlan eseteket Ix jelzéssel különítjük el az ismert formáktól.

## **2.2. Rett szindróma**

A Rett szindróma (OMIM 312750) egy, főleg lányokban jelentkező súlyos, a központi idegrendszer szürkeállományát érintő, korai fejlődési zavar, klasszikus formája mellett több variánsa is ismert.

A betegség előfordulási gyakorisága 1/10000-15000 lányokban, öröklődése X-hez kötött domináns mintát mutat. A kórkép hátterében az Xq28 régióban elhelyezkedő metil-CpG-kötő fehérje 2 gén (*MECP2*) mutációit írták le kórokozóként, ez a klasszikus formát mutató betegek 80-96%-ban, az atípusos formát mutató betegek kb. 40-50%-ban található meg. Mivel néhány esetben klinikailag jól meghatározhatóan Rett szindrómás betegekben az *MECP2* gén mutációi nem voltak kimutathatóak, ezért felmerült más gének szerepe is a kórkép létrejöttében. Így derült fény a ciklin-függő-kináz-szerű 5 (*CDKL5*) és a forkhead box protein G1 (*FOXG1*) gének kórokozó szerepére a szindróma atípusos formáinak kialakulásában.

## **2.3. Mitokondriális betegségek**

A mitokondriális betegségek általában ritka, multisisztémás kórképek, klinikailag, genetikailag és biokémiaileg nagyon különbözőek. A klinikai tünetek alapján szindrómás és nem szindrómás formákra oszthatóak.

### **2.3.1. Genetikailag determinált halláskárosodás**

A halláskárosodás a leggyakoribb veleszületett érzékszervi rendellenesség, 1000 újszülöttről egyet érint. A fellépés ideje alapján pre- és posztlingualisra osztható, attól függően, hogy más tünetekkel társul-e, szindrómás és nem-szindrómás halláskárosodás különíthető el, illetve csoportosítható a súlyosság alapján is. Oka lehet genetikai vagy nem genetikai eredetű. A mitokondriális DNS mutációi is állhatnak a halláskárosodás hátterében, ezek szintén szindrómás és nem-szindrómás formában fordulhatnak elő.

### **2.3.2. Leigh szindróma**

Az egyik legismertebb mitokondriális szindróma elnevezését első leírójáról, Denis Leigh-ről kapta, aki 1951-ben közölte, és az észlelt elváltozások alapján – agytörzsi kapilláris proliferáció és fokális nekrozis - szubakut nekrotizáló enkefalomielopátiának nevezte el. A kórkép általában gyermekkorban kezdődő neurodegeneratív betegség, jellemzően a központi

idegrendszer, ezen belül is az agytörzs, a talamusz, a bazális ganglionok, a cerebellum és a gerincvelő területén észlelhető fokális, bilaterális lézióival, ami demielinizáció, gliózis, nekrozis, spongiózis vagy kapilláris proliferáció lehet. A kórkép előfordulási gyakorisága kb. 2,05/100000, ami 6 éves kor előtt 1/32000-re tehető. A tünetek leggyakrabban két éves kor előtt jelennek meg (infantilis forma), azonban előfordul, hogy későbbi gyermekkorban (juvenilis forma), illetve felnőtt korban lépnek fel.

A klinikai tünetek a központi idegrendszer léziójának lokalizációjától függenek, de a szomatomentális késés, izomhipotónia, laktát acidózis, epilepsziás rohamok általában a klinikai kép részét képezik.

### 3. Célkitűzés

A laboratóriumi technikák fejlődésének köszönhetően a molekuláris eltérések és mechanizmusok feltárása egyre gyorsabbá vált. Fontos feladat, hogy ezekhez a felfedezett eltérésekhez minél pontosabban meg tudjuk határozni a fenotípusbeli jellegzetességeket. Ezért alapvető célkitűzésünk volt, hogy különböző, ritka betegcsoportokban klinikai adatokat gyűjtsünk a jellegzetes tünetek és a kórlefolyás minél részletesebb meghatározására.

1. A CDG Ix csoportba tartozó betegek klinikai adatait összehasonlítva a leggyakoribb dizmorfiás jelek, neurológiai és klinikai tünetek alapján a diagnosztizált betegek gondozása során javasolt vizsgálatok meghatározása.

2. A Rett szindróma tüneteit mutató magyar betegekben meghatározni a genetikai eltérést, az *MECP2*, a *CDKL5* és a *FOXG1* gének vizsgálatával.

Az adatok ismeretében a genotípus-fenotípus összefüggések feltárása, ennek ismeretében pedig egy diagnosztikus algoritmus felállítása.

3. A mt7445A>G mutáció miatt kialakult halláskárosodás és esetleges kísérő tünetek részletes feltárása saját betegeinkben.

4. A mt11777C>A mutáció detektálását követően a leletek és kórlefolyás ismeretében egy, az eddig ismerttől eltérő Leigh szindróma fenotípus részletes meghatározása.

### 4. A vizsgálatban résztvevő betegek

Az Európai Unió javaslata alapján a ritka betegségek ellátásában országos központok létrehozása szükséges. Magyarországon intézetünk látja el ezt a feladatot, ami a koordinálási munkák mellett diagnosztikai feladatot is jelent. Új, országosan egyedül álló módszerek beállításával, majd ezekről szakmai körben történt tájékoztatást követően kerülnek a betegek

intézetünk genetikai járóbeteg ellátására. Ebből adódóan egy-egy ritka betegséggel is relatívan gyakran találkozunk, és így

a fenotípusos variációk detektálásában nagyobb lehetőségekkel rendelkezünk.

A CDG-s betegcsoportban 10 olyan beteg fenotípusát elemeztük, akiknél a vizsgálatok során a CDG Ix diagnózisát állítottuk fel.

A vizsgálat második részének beteganyagát azon betegek alkották, akiket a PTE Orvosi Genetikai Intézetben Rett szindróma fenotípusa miatt, annak alátámasztása, illetve differenciáldiagnosztikája miatt vizsgáltunk. Ebben a csoportban 158 beteg részletes fizikális és dizmorfológiai vizsgálatát követően első lépésben az *MECP2* gén analízisét végeztük el. Akiknél ebben a génben eltérést nem találtunk, a következő lépésként a *CDKL5* gén vizsgálata történt meg. Azokban a betegekben, akiknél a fenti két gén vizsgálata során kórokozó eltérést nem tudtunk kimutatni, a *FOXG1* gén vizsgálatát is elvégeztük.

A halláskárosodás vizsgálata során egy három generációs családot vizsgáltunk, két érintett egyeddel. Mivel a halláskárosodás hátterében, magyar betegek közül ebben a családban mutattuk ki először a mt7445A>G mutációt, fenotípusukat az eddig ismertetett betegekével hasonlítottuk össze.

Leigh szindrómás betegünknel a genotípus meghatározása után került sor a fenotípus pontos elemzésére a rendelkezésre álló kórleírások, eszközös vizsgálatok (koponya MR, kardiológiai vizsgálatok, BERA, VEP) leletei alapján. A genotípust különböző szövetekből nyert mintán is meghatároztuk. A gyermek további hat családtagjánál végeztük el a mutáció meghatározását. Az így nyert adatainkat itt is a korábban már ismertetett betegek adataival vetettük össze.

## **5. Alkalmazott módszerek**

### **5.1. Transzferrin izoelektromos fókuszálás**

A vizsgálat elvégzéséhez 10 µl szérumszámra szükséges, amelyet első lépésben vassal szaturálunk: a szérumszámra 10 mM Fe(III)citrát (SIGMA) és 0,5 M NaHCO<sub>3</sub> (MERCK) 2:1 arányú elegyből vett 3 µl mennyiségű oldattal összekeverve 30 percig inkubáljuk szobahőmérsékleten. Ezután a mintát 6x-osra hígítjuk desztillált vízzel, majd vortexeljük.

A szaturáció után elvégezzük az izoelektromos fókuszálást: 5-8 közti pH gradienst tartalmazó poliakrilamid gélt 15 °C-ra hűtött szeparáló felületre helyezünk (PHASTSYSTEM;

Pharmacia). Az előkészített mintákból 1 µl-t a géltre felviszünk, majd elvégezzük az elektroforézist (2000 V, 5.0 mA, 3.5 W, 15 °C kondíciók mellett 130 Vh ideig).

Az elektroforézis után a gél felszínén 60 µl anti-transzferrin antitestet (RABBIT ANTI-HUMAN TRANSFERRIN, DAKO, A0061) eloszlatunk. Az antitest a gélben jelenlévő transzferrinhez kötődve azt immobilizálja. Az elválasztott, immobilizált transzferrin formákat (asialo-transzferrin -> hexasialo-transzferrin) Coomassie blue festéssel tesszük láthatóvá. Az egyes minták különféle sialo-transzferrin formáinak mintázatát egy kóros és egy normál kontroll mintához viszonyítva értékeljük.

## **5.2. Polimeráz lánreakció (PCR)**

Munkánk során alkalmazott genomi DNS mintát etilén-diamin-tetra-acetáttal (EDTA) alvadásgátolt perifériás vér fehérvérsejtjeiből nyertük rutin kisózásos módszerrel (Miller 1988). A rendelkezésünkre álló DNS mintákból a vizsgálni kívánt szakaszokat általunk tervezett polimeráz lánreakcióval amplifikáltuk fel. A reakcióelegyet minden vizsgálatunknál 50 µl végtérfogatra állítottuk össze, melyhez 200 µM dNTP oldatot, 1 U Taq polimeráz enzimet (10 U/µl), 5 µl puffer oldatot (500 mM KCl, 14 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Tris-HCl; pH 9,0), 0,2 mM megfelelő primerpárt (Metabion International AG, Martinsried, Germany) és 1 µg DNS templátot használtunk.

## **5.3. Restriktions fragmentum hossz polimorfizmus (RFLP) módszer**

A restriktions endonukleázokkal történő hasításhoz 10-15 µl PCR terméket használtunk fel. A reakcióhoz minden esetben 1 U megfelelő restriktions endonukleázt (Fermentas Inc., Burlington, ON, Canada), az enzim működéséhez szükséges 10x puffert és steril desztillált vizet használtunk, majd a reakcióelegyet a restriktions enzimnek megfelelő hőmérsékleten inkubáltuk. A restriktions hasítás tervezésénél minden esetben arra törekedtünk, hogy az enzimnek a felszorosozott DNS szakaszban a genotípustól függetlenül legyen egy obligát hasítási helye, amely segítségével meggyőződhetünk az enzim megfelelő működéséről.

## **5.4. DNS szekvencia meghatározás és analízis**

Mutációanalízis céljából illetve RFLP eredményeink alátámasztása érdekében mindkét irányból történő direkt szekvenálással határoztuk meg mintáink nukleotidsorrendjét. A vizsgálatot ABI Prism 3100 Avant típusú automata szekvenáló készüléken végeztük (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A kapott szekvenciák referencia-szekvenciával történő

összehasonlítását a Winstar genetikai programcsomaggal végeztük (DNASTAR Inc., Madison, WI, USA).

Az *MECP2*, *CDKL5* és *FOXG1* gének vizsgálata direkt szekvenálással történt. Az *MECP2* gén 3 kódoló szakaszának (2-es, 3-as és 4-es exon) amplifikálásához az általunk tervezett 9 primer párt használtuk. A *CDKL5* gén esetében részben az irodalomban korábban publikált, részben általunk tervezett primerekkel analizáltuk a 22 kódoló szakaszt, míg a *FOXG1* gén vizsgálatánál saját tervezésű primereket alkalmaztunk.

### **5.5. Multiplex ligációfüggő próba amplifikáció**

Az *MECP2* és a *CDKL5* gén nagyobb átrendeződéseit a SALSA MLPA kit P015 *MECP2* kitek segítségével vizsgáltuk a gyártó MRC Holland (Amszterdam, Hollandia) ajánlása szerint próbamix az *MECP2*, *CDKL5*, *ARX* és *NTNG1* génekre specifikus próbákat tartalmaz.

A multiplex ligációfüggő amplifikációhoz 100ng genomiális DNS-t 16 órán át hibridizáltunk a specifikus próbákkal, majd a ligációt követően fluoreszcensen jelölt primerek jelenlétében PCR amplifikációt alkalmaztunk. A PCR termékeket ABI Prism 310 Genetic Analyzer automata szekvenátoron, fragment analízis során szeparáltuk és kvantifikáltuk. Az adatok kiértékelése során a fragmentek csúcsmagasságát vettük figyelembe, és normalizáltuk úgy, hogy a kontroll fragmentek csúcsmagasságának összegével osztottuk el az egyes csúcsmagasságokat. Ezek után az öt kontroll minta átlagos normalizált csúcsmagasságával osztottuk el a kapott értéket. Ezzel a módszerrel a kapott eredmények az adott allélok kópiaszámát adják meg normál kontrollokhoz viszonyítva. Azon mintákat, amelyek valamilyen kópiaszámbeli eltérést mutattak, újból alávetettük az analízisnek, és csak akkor tekintettük a deléciót vagy duplikációt igazoltnak, amennyiben azt a két független mérés eredménye egyhangúlag alátámasztotta.

## **6. Eredmények**

### **6.1. A CDG Ix klinikai spektruma**

Azoknál a betegeknél, akik esetében a CDG Ix diagnózisát állítottuk fel, a két meghatározó tünet a fejlődésbeli késés és az axiális hipotónia volt. Előbbit a betegek 91, utóbbit 82%-ában észleltük. Emellett nem-specifikus tüneteket, mint dizmorfiás jelek,

rendellenes alvadási faktorok, hipoalbuminémia, májbetegségek, különböző audiológiai és szemészeti rendellenességek, figyeltünk meg. strabizmus és nisztagnus ritkábban forrdult elő.

A klinikum számára fontosnak tartunk kiemelni néhány olyan beteget, akiknél a tünetek szokatlan, azonban CDG Ix-re jellegzetes társulása volt megfigyelhető:

- Négy betegben optikus atrófia és ennek következtében kialakuló vakság extrapiramidális tünetekkel társult, ebből két betegnél kisagyi atrófia, egynél polineuropátia is társult a klinikai képhez, illetve egynél májkárosodás jelei és véralvadási rendellenességek volt megfigyelhetőek.
- Két betegben katarakta és epilepsziás rohamok társultak májkárosodással.
- Egy – egy betegben nefrózis szindróma, mikrokefáliával, epilepsziás rohammal, aszcitesszel és hepatomegáliával, illetve artrogripózis makrokefáliával, polineuropátiával és vesecisztával járt együtt.

A klinikai tünetek alapján jól elkülöníthető a kórkép két alcsoportja: a kizárólag neurológiai tünetekkel, illetve a neurológiai és többszervi manifesztációval járó forma. Anyagunkban a kórkép kizárólagosan neurológiai prezentációja 6 betegnél volt észlelhető. A saját 10 betegünk és az irodalomban közölt 13 beteg részletes tünettana az 1. táblázat mutatja.

## **6.2. A fenotípus-genotípus vizsgálata Rett szindrómában**

Ebben a betegcsoportban első lépésben elvégeztük az *MECP2* gén mutációsűrését, majd azokban a betegekben, akiknél ennek során eltérést nem találtunk a *CDKL5* gén vizsgálata történt. Utolsó lépésként azoknál, akiknél mindkét gén vizsgálata negatív volt, a *FOXP1* gént analizáltuk.

Az *MECP2* vizsgálata során 22 különböző ismert eltérést észleltünk 42 betegnél: 7 frameshift deléció, 4 nonsense és 10 missense mutációt, egy betegben pedig egy nukleotid inzerciót találtunk. Az észlelt mutációk megoszlását a 2. táblázat foglalja össze.

Egy betegben a Rett szindróma patogenezisében eddig még nem tisztázott szerepet játszó c.925C>T (p.Arg309Trp) missense mutációt észleltük, amit eredetileg egy, beszédmaradás és fejlődésbeli késés miatt vizsgált 7 éves fiúban írtak le először.

Ezen kívül egy 18 bázispáros deléciót (c.1162\_1179del18) találtunk egy betegünkben és az édesapjában is. Mivel az apa egészséges volt, és a probanda hordozott még egy, a leolvasási keret eltolódását okozó inzerciót (c.276\_277insG) is, azt feltételeztük, hogy – bár a RettBASE: IRSF MECP2 Variation Database szerint nem egyértelműen eldönthető, hogy ez a



deléció mutáció vagy polimorfizmus - betegünkben nem a 18 bázispárnyi deléció felelős a Rett fenotípusért.

Az *MECP2* vizsgálata során nyert genotípus-fenotípus összefüggéseket részletesen a 2. táblázat mutatja, néhány adatot azonban fontosnak tartunk kiemelni: az *MECP2* negatív betegek mindössze 17%-a mutatta a RTT klasszikus formáját, 8% esetében az RTT kongenitális formája volt valószínűsíthető, és 12%-uk fiú volt.

A vizsgálat következő lépéseként a *CDKL5* gén mutációsűrését végeztük el azokban a betegekben, akikben az *MECP2* tesztelés során kórokozó eltérést nem találtunk. Ennek kapcsán 8 betegben megtaláltuk c.2327A>C (p.Gln791Pro), 1-1 betegben pedig a c.3003C>T (p.His1001His) és c.3084G>C (p.Thr1708Thr) ismert polimorfizmusokat, valamint két betegben 1-1, eddig még nem ismert mutációt, a c.607G>T (p.Glu203Stop) és a c.536C>T (p.Ser179Phe).

### **6.3. A mt7445A>G mutáció miatt kialakult halláskárosodás**

A fenti mutációt eddig mindössze hat családban észlelték a halláskárosodás hátterében (Reid, 1994). Az általunk vizsgált család és az irodalomban eddig leírt családok eredményeinek összevetését a 3. táblázat mutatja.

### **6.4. A mt11777C>A mutáció következtében kialakult Leigh szindróma fenotípusa**

A vizsgált gyermek kezdeti tünetei - negatív családi- és terhességi anamnézist követően - a korai perinatális időszakban fellépő nyugtalanság, hányás majd az ötödik életnapon fellépő mioklonusok voltak. Hét hónaposan fizikális státuszában spaszticitás, konvulzió, és cerebrál parézis volt észlelhető, az elvégzett EEG vizsgálat hipszaritmiát véleményezett. West szindróma diagnózisát állították fel, és antiepileptikus kezelést kezdtek, a gyógyszer beállítását követően 16 hónapos koráig görcsmentes volt, EEG vizsgálat negatív lett. A megismételt 1,5-T MR vizsgálat az egész nyúltagy és közepagy területén fokozott szignálintenzitást mutatott, a proton spektrometria emelkedett laktát szignált detektált. Bár a gyermeknek „stroke-like” tünetei nem voltak, a klinikai kép mitokondriális enkefalomiopátiát valószínűsített. Ezt követően a betegség gyorsan progrediált, a gyermek szomnolens lett, gyakran hányás jelentkezett, a kardiológiai vizsgálat hipertrófiás kardiomiopátiát észlelt. A légzés- és keringés leállása miatt 17 hónaposan exitált. A beteg véréből, májából és vázizmából izolált DNS-en a leggyakoribb, Leigh szindrómát és MELAS-t okozó mutációk

vizsgálata negatív eredményt adott. Ezt követően a mt1177C>A mitokondriális mutációt vizsgáltuk, amit a beteg minden mintájában heteroplazmiás formában detektáltunk. RFLP agaróz gél denzitometriás analízise az 1177A allél arányát vérben 50%-nak, izomban és májban 60%-nak mutatta. Betegünkben észlelt eltérések összevetését az irodalomban eddig ismertetett betegek tüneteivel a 4. táblázat mutatja

## **7. Az eredmények megbeszélése**

### **7.1. CDG Ix**

A 10 általunk diagnosztizált és a 13 korábban közölt CDG Ix szindrómás beteg klinikai adatait áttekintve a következő megállapításokat tehetjük:

- A CDG Ia szindrómára jellegzetes invertált emlőbimbót és abnormális zsíreloszlást más CDG formákban is megfigyelhetjük, bár sokkal ritkábban.
- A betegekben leggyakrabban észlelt dizmorfiás tünetek- nem specifikus tünetek, gyakran kísérik a központi idegrendszer kongenitális anomáliáit
- Az abnormális alvadási paraméterek gyakran fordulnak elő CDG Ix altípusban, néha tünetmentesen. Ezért mindig, CDG gyanúja esetén épp úgy, mint konkrét diagnózisnál, az alvadási paraméterek ellenőrzése szükséges.
- Szemészeti elváltozások közül CDG Ix alcsoportban jellegzetes a látóideg sorvadás, valamint kissé ritkábban a kétoldali katarakta és glaukóma társulása.

Vizsgálataink alapján minden izomhipotóniás, dizmorfiás gyermekben, akinél katarakta is fennáll, CDG irányába történő vizsgálatok elvégzését javasoljuk.

Látóideg sorvadás disztóniás mozgással történő társulása Leber optikus neuropátiában észlelhető, azonban CDG eddig még nem tisztázott altípusában is leírásra került. Ezért javasoljuk LHON esetén, amennyiben a mitokondriális vizsgálatok negatív eredményt adnak, CDG tesztelés elvégzését.

A klinikai tünetek és a kórlefolyás alapján a CDG Ix-es betegek tisztán neurológiai és neurológiai-többszervi tüneteket mutató csoportra oszthatók. A csak neurológiai tüneteket mutató betegek kórlefolyása enyhébb, míg a másik csoportba tartozóknál korábbi kezdet, gyorsabb kórlefolyás észlelhető.

### **7.2. Rett szindróma**

A szindróma klasszikus formájában szenvedő betegek kb. 60%-ában lehetett az *MECP2* gén mutációit kimutatni, irodalmi adatok alapján. Mi a beteganyagunkban mindössze

27,6%-ban találtuk meg ebben a génben az eltérést. Ennek két magyarázata lehetséges: egyrészt az *MECP2* gént érintő nagyobb genomai átrendeződések, amik a szekvenálással nem detektálhatók, és amelyek a klasszikus esetek kb. 37%-ában, míg az atípusos formák 7,5%-ában kórokozók. A viszonylag alacsony arány másik magyarázatát a fenotípus elemzés adja, hisz az *MECP2* negatív betegek mindössze 16,2%-a mutatta a szindróma klasszikus formáját. Során a *CDKL5* gén kóroki eltérését két atípusos Rett fenotípust mutató betegünkönél találtuk meg, míg a *FOXG1* génben egy esetben sem találtunk eltérést. Ennek háttérében szintén két okot találtunk: egyrészt a *FOXG1* gén általában alacsony arányban észlelhető Rett szindrómásokban, a másik ok, pedig, hogy betegeink között mindössze kb. 8%-ban észleltük a kongenitális forma tüneteit.

A génátrendeződések kimutatására alkalmas vizsgálati módszer az MLPA, ami nemrég került beállításra intézetünkben. Azoknál a betegeknél, akiknél a fentebb leírt vizsgálatok során eltérést nem észleltünk, folyamatban van az *MECP2* és a *CDKL5* vizsgálata ezzel a módszerrel, eddig 1 betegnél észleltünk eltérést.

### **7.3. A mt7445A>G mutáció miatt kialakult halláskárosodás**

Betegünkben a mtDNS 7445-ös pozíciójában egy adenin-guanin bázispár cserét találtunk. A 7445G variáns eddig mindössze hat családban került felismerésre, néha palmoplantáris keratodermával kombinálódva, néha anélkül. A betegség penetranciája és expresszivitása családon belül is változó volt. Az általunk talált magyar család vizsgálata kapcsán úgy gondoljuk, hogy más mitokondriális és nukleáris faktorok, valamint környezeti ágensek is – nagy valószínűséggel - szerepet játszanak a halláskárosodás kialakulásában. Az érintett mutáció a vizsgált családokban homoplasztikus és heteroplasztikus formában is előfordult, azonban eddig olyan családot, ahol egyszerre mindkét - homo- és heteroplasztikus – forma kimutatható volt, rajtunk kívül még nem észlelték. Amellett, hogy a heteroplazmia arányában igen jelentős különbségek észlelhetők családon belül, a család mindkét ágában klinikailag érintett (halláskárosodott) családtagok találhatóak. Ez alapján azt a megállapítást tehetjük, hogy a mutáns mtDNS aránya önmagában nem határozza meg szükségszerűen a klinikai tünetek kifejlődését. Fontosnak tartjuk kihangsúlyozni azt is, hogy az mt7445A>G eltérés analízise, ebben és a korábbi vizsgálatokban is, csak a vér leukocitákban történt meg. A normál és a mutáns allélek aránya a különböző szövetekben, pl. a hallószerv sejtjeiben eltérő lehet, mindamellett, hogy a mutáció által károsított fehérje még nem azonosított. Az azonban mindenképpen lényeges adat, hogy egészséges kontrollokon a mt7445A>G mutáció

alapos vizsgálata során kizárólag a normál allélt lehetett kimutatni. Ez alátámasztja a vizsgált családban észlelt eltérés patológiás szerepét.

#### **7.4. A mtDNS 11777C>A mutáció következtében kialakult Leigh szindróma**

A Leigh szindróma genetikai háttere igen heterogén, ennek megfelelően számos mtDNS mutáció is állhat a hátterében. Ugyan a mtl11777C>A mutáció egy gyakorinak tartott elváltozás, mindössze négy betegben azonosították az irodalomban. Az irodalmi adatokat összevetve a tünetek az általunk ismertett betegnél jelentkeztek a legkorábban (7 hónapos korban), és ezek a többi beteg tüneteitől jelentősen eltértek (West szindróma, toxikus hányás és hipertrófiás obstruktív kardiomiopátia). A betegség progressziója az ő esetében igen agresszív volt, ami korai fatális kimenetelhez vezetett. Mindezek alapján betegünk a többi ismertett esettől jelentősen eltér, ezzel is alátámasztva, hogy rendkívül széles a talált mutáció által okozott fenotípusos spektrum.

### **8. Összefoglalás**

Tanulmányunkban a következő genotípus-fenotípus asszociációkat figyeltük meg:

#### *1. CDG Ix szindrómás betegek vizsgálata kapcsán:*

- meghatározó tüneteknek a fejlődésbeli késést és az axiális izomhipotóniát tartjuk, emellett a betegek kb. felében nem specifikus kraniofaciális dizmorfia észlelhető (mikro/retrognátia, hipertelorizmus, nagy és alacsonyan ülő fül).
- magas a véralavadási rendellenességek előfordulási aránya, ami esetenként csak kóros laboreredmények formájában észlelhető, ezért javasolt az alvadási paraméterek ellenőrzése ezekben a betegekben.
- a klinikai képhez gyakran társul szemészeti rendellenesség, ami leggyakrabban látóideg sorvadás.
- néhány esetben a tünetek szokatlan tárulása alapján merül fel a CDG Ix diagnózisa.

#### *2. A Rett szindróma tüneteit mutató betegekben:*

- részletesen meghatároztuk az *MECP2* génben észlelt mutációk megoszlását és frekvenciáját.
- pontos megfigyeléseket tettünk a fenotípusos jegyekkel és a betegség progressziójával kapcsolatban a genotípus viszonylatában.

- a *CDKL5* génvizsgálata során két betegben egy-egy új mutációt írtunk le, amihez meghatároztuk a pontos klinikai képet.
- eredményeink alapján javasoljuk a korai terápiarezisztens epilepsziával járó RTT betegekben a *CDKL5* gén vizsgálatának elvégzését az *MECP2* gén negativitása esetén, vagy akár első vizsgálatként is elvégezni.

3. A *mtDNS 7445A>G* mutációt hordozó család vizsgálata során:

- első alkalommal észleltük magyar családban ezt a ritka mutációt
- a kóros forma megoszlásában jelentős különbségeket találtunk az érintett és a klinikailag egészséges tagok között, ezzel alátámasztottuk azt a tényt, hogy a klinikai kép szempontjából – akár egy tünet súlyosságát, akár egyéb társuló tünetek jelenlétét tekintve - a vérben észlelhető kóros *mtDNS* arány nem meghatározó.

4. A *mt11777C>A* mutációja következtében kialakult Leigh szindróma esetén:

- új fenotípust írtuk le, mivel egyrészt betegünkben lépett fel a legfiatalabb életkorban a betegség. A vezető tünetek - West szindróma, toxikus hányás és hipertrófiás obstruktív kardiomiopátia – szintén eltértek az eddig ismertetett betegektől, a kórlefolyás pedig a többi beteggel összehasonlítva lényegesen gyorsabb progressziót mutatott.
- a saját és az irodalomban ismertetett betegek fenotípusát vizsgálva megfigyeltük, hogy a *mt11777C>A* mutáció következtében kialakuló kórképek széles klinikai spektrumot ölelnek fel.

**1. táblázat CDG Ix betegek klinikuma**

Tünet	Beteg																	
	1	2	3 <sup>a</sup>	4	5	6 <sup>b</sup>	7 <sup>a</sup>	8	9 <sup>a</sup>	10	11-13	14	15	16-17	18	19	20-21	22-23
Dizmorfiás jelek	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
Izom hipotónia	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Pszihomotoros retardáció	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
Retinitisz pigmentóza	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Glaukoma	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katarakta	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Optikus atrófia	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Extrapiramidális tünetek	-	-	+/-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Stroke-like epizódok	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Epilepsziás roham	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+/-	+	-	+/-	-	+	+	-
Kardiomiopátia	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Izomgyengeség, emelkedett CK	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Polineuropátia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Kisagyi atrófia	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+
Artrogripozis	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Növekedési zavar	+	+	-	-	-	+	+/-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+
Cisztás vesebetegség	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Légzési elégtelenség	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Hasmenés/hányás	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+/-	+	-	+	-	-	-	+
Májkárosodás	-	+	+/-	-	+	+	-	-	-	-	+/-	+	-	+	+	-	+	+
Hipoalbuminémia	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+
Alvadási rendellenesség	-	+	+/-	+/-	+/-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
Trombocitopénia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	-	+	-	-	-	+
Visszatérő infekciók	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Idegrendszeri prezentáció	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Ideg+ többszervi prezentáció	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+

<sup>a</sup> tranzienst májfunkciós rendellenesség

Későbbi diagnózis. CDG Ik.

11-13: De Lonlay et al (2001). 14: Mention et al (2001). 15: Prietsch et al (2002). 16-17: Acarregui et al (1998). 18: Zentilin et al (2003). 19: Assmann et al (2001). 20-21: Cohn et al (2006). 22-23: McKenzie et al (2007)

	<b>Mutáció (43)</b>	<b>Polimorfizmus (8)</b>	<b>Negatív (74) – 9 fiú</b>
<b>I. stádium</b>			
eseménytelen	44,2%	50%	27,39%
lassú fejlődés	51,2%	37,5%	71,23%
izomhipotónia	4,65%	12,5%	1,36%
<b>II. stádium kezdete</b>	19,9 hónap (6-48)	14,6 hónap (8-24)	21,39 hónap (3-66)
Nem meghatározható		25%	19,17%
<b>Dizmorfiás jelek</b>			
mikrokefália	74,4%	37,5%	41%
kis láb	46,5%		12,3%
arc aszimmetria	34,8%		
szkoliozis	32,5%		23,2%
diszkránia			15%
negatív	4,65%	12,5%	17,8%
<b>Neurológiai jelek</b>			
Sztereotípiá/kényszeres mozgás	76,7%	62,5%	49%
Görcs	44,1%		42,4%
kóros reflex	37,2%		
izomhipotónia	34,8 %	50%	50,6%
autisztikus jelek		37,5%	
neuroradiológiai eltérések			21,9%
negatív			4%
enyhe fenotípus	4,65%		
klasszikus fenotípus			16,2%
<b>Élekor a vizsgálat idején</b>	6,8 év (2-21)	5,5 év (2-9)	5,3 év (0,75-18)

**2. táblázat. Genotípus-fenotípus összefüggések az *MECP2* gén kapcsán**

Vizsgált család nemzetisége	Vizsgált/érintett beteg	Mutáció előfordulása	Halláskárosodás megjelenésének ideje	Egyéb tünet	Más lelet	Vizsgált gén
Skót	14/13	homo/heteropl	3-18 év	-	Polimorf.	MT-CYB
új-zélandi	10/18	Heteroplasztikus	2.évtized	-	Két szek. Leber mut.	MT-ND
Japán	3/17	homoplasztikus	gyermekkor	PPK	-	-
francia	2/4	homoplasztikus	>6 év	PPK	nem vizsg.	-
Ukrán	5/7	homoplasztikus	6-15 év	-	-	-
portugál	8/10	homoplasztikus	nincs adat	PPK	Nem vizsg.	-
magyar	5/2	homo/heteropl.	gyermekkor	-	Polimorf.	16S rRNS, MT-ND, Mt-CYB, MT-COI-II

**3. táblázat. A mt7445A>G mutáció miatt kialakult halláskárosodás fenotípusai**



beteg nemzetisége/neme	vizsgált szövet	1177C>A mutáció aránya (%)	első tünetek megjelenésének időpontja	egyéb tünetek	egyéb lelet	
					Mitochondriális mutáció	haplotípus
japán /nő1	izom vér mioblaszt fibroblaszt	83 40 78 57	3 év 5 hó (alacsony növés)	Exotrópia (jobb szem) mérsékelt izomtónus csökkenés vér és liquor: emelkedett laktát MRI: a középagy és a talamusz területén bilaterálisan kóros jelintenzitás	73A>, 150C>T, 151C>T, 263A>G, 303delC, 310insC, 489T>C, 527C>G, 1107T>C, 1438A>G, 2706A>G, 3106delC, 4200A>T, 4216T>C, 4317A>G, 4769A>G, 4833A>G, 4985G>A, 5178C>A, 5301A>G, 5442T>C, 5554C>T, 7028C>T, 7129A>G, 7669C>T, 8580C>T, 8860A>G, 10397A>G, 10398A>G, 10400C>T, 10873T>C, 11394T>C, 11719G>A, 12705C>T, 12810A>G, 13984C>T, 14783T>C, 14927A>G, 15043G>A, 15301G>A, 15326A>G, 15622T>C, 15737G>A, 16184insC, 16190delC, 16233C>T, 16291C>T, 16311T>C, 16316A>G, 16362T>C	D 5
japán /nő 2	izom vér mioblaszt	76 52 76	3 év (disztónia)	Exotrópia (bal szem), alacsony növés, fokozott mélyreflexek, disztónia vér/liquor: enyhén emelkedett laktát MRI: bazális ganglionok, substantia nigra és gerincvelő területén bilaterálisan kóros jelintenzitás	73A>G, 143G>A, 152T>C, 204T>C, 263A>G, 489T>C, 709G>A, 1438A>G, 3106delC, 3426A>G, 4769A>G, 4833A>G, 4985G>A, 5108T>C, 7028C>T, 7621T>C, 8701A>G, 8854G>A, 8860A>G, 9540T>C, 10398A>G, 10400C>T, 10873T>C, 11335T>C, 11719G>A, 12705C>T, 14569G>A, 14766T>C, 15043G>A, 15301G>A, 15326A>G, 15746A>G, 16233C>T, 16274G>A, 16362T>C	HV-N-L3
olasz/nő	izom	60	6 év (kétoldali látóideg sorvadás)	Leigh szindróma -szerű tünetek, normál laktát MRI: bazális nukleuszok területén kóros jelintenzitás		ND
angol/férfi	izom agy	93 67-81	67 év (bal oldali nyugalmi tremor)	Hemiparézis, epilepszia, pankreatitisz, vér/liquor: emelkedett laktát, MRI: Frontális és parietális lebenyben és a kisagyi hemiszfériumban hiperintenz léziók		ND
magyar/férfi	izom vér máj	60 <sup>a</sup> 50 <sup>a</sup> 60 <sup>a</sup>	7 hó (spaszticitás, hipotónia, cerebrális parézis)	hipszaritmia, West szindróma MRI: frontális atrófia és kamratágulat, fokozott jelintenzitás a teljes mezenkefalon és a nyúltagy területén agyban emelkedett laktát Toxikus hányás, hipetrófiás obstruktív kardiomiopátia	4216T>C, 11719G>A, 12453T>C, 13708G>A, 15452C>A	J

4. táblázat. A mtDNS1177C>A mutáció következtében kialakult Leigh szindróma fenotípusai

## A dolgozat alapjául szolgáló eredeti közlemények

Morava E, Wosik H, Kárteszi J, Guillard M, Adamowicz M, Sykut-Cegielska J, **Hadzsiev K**, Weavers RA, Lefeber DJ. Congenital disorder of glycosylation type IX: review of clinical spectrum and diagnostic steps. *J Inher Metab Dis* 2008;31(3):450-456.

IF: 2,69

Maász A, Komlósi K, **Hadzsiev K**, Szabó Z, Willems PJ, Gerlinger I, Kosztolányi Gy, Méhes K, Melegh B. Phenotypic variants of the deafness-associated mitochondrial DNA A7445G mutation. *Curr Med Chem* 2008;15(13):1257-1262.

IF: 4,82

**Hadzsiev K**, Maász A, Kisfali P, Kálmán E, Gömöri E, Pál E, Berényi E, Komlósi K, Melegh B. Mitochondrial DNA 11777C>A mutation associated Leigh syndrome: case report with review of the previously described pedigrees. *Neuromolecular Med.* 2010;12(3):277-284.

IF: 2,6

**Hadzsiev K**, Polgár N, Bene J, Komlósi K, Kárteszi J, Hollódy K, Kosztolányi Gy, Renieri A, Melegh B. Analysis of Hungarian patients with Rett syndrome phenotype for *MECP2*, *CDKL5*, and *FOXG1* gene mutations. *J Hum Genet* PMID: 21160487

IF: 2,5

## A témában megjelent egyéb közlemények

**Hadzsiev K**, Veszprémi B, Vizer M. Egy ritka koponyacsont-fejlődési rendellenesség peripheriás csontanomáliákkal. *Gyermekgyógyászat*, 1997, 48 (6): 674-677

**Hadzsiev K**, Czakó M, Kaiser L, Kosztolányi Gy. Két hétig élt újszülöttben észlelt 14-es triszómia különböző arányú szervi mozaikossággal. *Gyermekgyógyászat*, 2002, 53(1): 65-68

Kárteszi J, Hollódy K, Bene J, Morava E, **Hadzsiev K**, Czakó M, Melegh B, Tészás A, Kosztolányi G. Mutation analysis of *MECP2* and determination of the X-inactivation pattern in Hungarian Rett syndrome patients. *Am J Med Genet A*. 2004, 15;131(1):106.

IF: 3,659

Kárteszi J, Hollódy K, Bene J, Morava E, **Hadzsiev K**, Czakó M, Melegh B, Kosztolányi G. Mutational analysis of the *MECP2* gene by direct sequencing in Hungarian patients with Rett syndrome. *Orv Hetil.* 2004;145(17):909-11.

Kellermayer R, Siitonen HA, **Hadzsiev K**, Kestilä M, Kosztolányi G. A patient with Rothmund-Thomson syndrome and all features of RAPADILINO. *Arch Dermatol.* 2005;141(5):617-20.

IF: 3,43

Kellermayer R, Hsu AP, Stankovics J, Balogh P, **Hadzsiev K**, Vojcek A, Maródi L, Kajtár P, Kosztolányi G, Puck JM. A novel *IL2RG* mutation associated with maternal T lymphocyte engraftment in a patient with severe combined immunodeficiency. *J Hum Genet.* 2006;51(5):495-7

IF: 2,205

Kárteszi J, Kosztolányi G, Czakó M, **Hadzsiev K**, Morava E. Transient progeroid phenotype and lipodystrophy in mosaic polyploidy. *Clin Dysmorphol*. 2006;15(1):29-31.

IF: 0,534

Kleefstra T, Wortmann SB, Rodenburg RJ, Bongers EM, **Hadzsiev K**, Noordam C, van den Heuvel LP, Nillesen WM, Hollody K, Gillessen-Kaesbach G, Lammens M, Smeitink JA, van der Burgt I, Morava E. Mitochondrial dysfunction and organic aciduria in five patients carrying mutations in the Ras-MAPK pathway. *Eur J Hum Genet*. 2011, 19(2):138-44.

IF: 3,56

### **Más témában megjelent közlemények**

Kaiser L, Pajor L, Arany A, Veszprémi B, Hadzsiev K, Vizer M. Fetus as a patient- a pathological approach. *Cesko-Slovenska Pediatrie*, 1997,7: 469-470

**Hadzsiev K**, Veszprémi B, Arany A, Vizer M, Vereczkey G, Szabó I, Farkas A. Congenital malformations diagnosed during pregnancy and operated after birth. Review of five years experience: success and pitfalls. *Cesko-Slovenska Pediatrie*, 1997, 7: 474-475

**Hadzsiev K**, Thurzó V, Ertl T, Sárkány I, Szabó I. Ultrasound examination of gastric emptying in preterm infants. *Archives of Perinatal Medicine*, 4, 45-45, 1998

Ertl T, **Hadzsiev K**, Vincze O, Pytel J, Szabo I, Sulyok E. Hyponatremia and sensorineural hearing loss in preterm infants. *Biol Neonate*. 2001;79(2):109-12.

IF:1,072

Aszmann M, **Hadzsiev K**, Kosztolányi G. Rehabilitation needs of a genetic counseling unit. *Genet Couns*. 2005;16(4):417-9.

IF: 0,456

**Hadzsiev K**, Tárnok A, Kosztolányi G, Méhes K. Excess of malignancies in grandparents of children with malformations? *Acta Biol Hung* 2006;57(1):137-40.

IF:0, 688

**Hadzsiev K**, Czakó M, Veszprémi B, Kosztolányi Gy. Magzati kromoszóma-rendellenességek gyors diagnosztizálása interfázis fluoreszcens in situ hibridizációval. *Orv Hetil*. 2007, 148, 30: 1401-1404

Bondor B, Kárteszi J, **Hadzsiev K**, Kellermayer R, Melegh B, Kosztolányi G. Psychological aspects of presymptomatic diagnosis in Huntington disease. *Orv Hetil*. 2008;149(13):609-12.

### **Idézhető absztraktok**

Szilágyi A, Thurzó V, **Hadzsiev K**, Feledi É, Ertl T, Szabó I. Perinatal outcome in newborns of diabetic pregnant women. *Diab Nutr Metab* 10 (Suppl to 6) 26, 1997

**Hadzsiev K**, Schmidt I, Ertl T, Tamás P, Szabó I. Impedance cardiography of the neonate

XIIth Congress of Perinatal Medicine, XXth Alpe Adria Meeting Proceedings (eds: Pajntar M, Cerar T, Premu-Srsen, M. Trenkic) Ljubljana, 1998 ISBN 961-90492-3-3, 108

**Hadzsiev K**, Ertl T, Vincze O, Pytel J, Kiss T, Szabó I, Sulyok E. Hyponatraemia and sensorineural hearing loss in preterm infants. Preeclampsia, perinatal hemorrhage and hemostatic problems, XIIIth Congress of Perinatal Medicine, XXIst Alpe Adria Meeting Abstracts (eds: Walcher W, Rosegger H) Graz, 2000 ISBN: 3-00-005155-4, 38.

**K Hadzsiev**, S Funke, E Morava, J Karteszi, O Bartsch, K Méhes. Cotsirilos syndrome in twins from unaffected parents. *Eur J Hum Genet*, 2002,10(suppl 1):115. **IF:3,136**

E Morava, M Czako, **K Hadzsiev**, G Kosztolanyi, K Mehes. Autosomal dominant ulnar/fibular ray defect: a possible new syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2002,10(suppl 1):115. **IF:3,136**

**K Hadzsiev**, M Czako, B Veszpremi, G Kosztolanyi. Prenatal screening of aneuploidy by interphase FISH. *Eur J Hum Genet* 2003,11(supl 1):147. **IF: 3,664**

J Karteszi, E Morava, **K Hadzsiev**, M Czako. G Kosztolanyi. Cutis laxa, lipodystrophy and transient progeroid phenotype in mosaic polyploidy. *Eur J Hum Genet* 2003,11(supl 1):97. **IF: 3,664**

M Czako, L Szabo, E Morava, **K Hadzsiev**, J Karteszi, G Kosztolanyi. Pregnancy outcome in carriers of translocation involving the Miller-Dicker critical region. *Eur J Hum Genet* 2003,11(supl 1):106. **IF: 3,664**

J Weisenbach, K Hollódy, J Karteszi, **K Hadzsiev**, B Melegh, G Kosztolanyi. Characteristic X-ray sign of Rett syndrome: extremely thin diaphysis with narrow medulla of tubular bones. *Eur J Hum Genet* 2003,11(supl 1):112. **IF: 3,664**

**K Hadzsiev**, A Nagy, M Czako, R Kellermayer, B Melegh, G Kosztolanyi. Rare case in hemophilia A in a female patient with a 46,X,idic(Xq) karyotype. *Eur J Hum Genet* 2004,12(suppl 1):95. **IF:2,741**

J Karteszi, J Bene, K Hollódy, E Morava, **K Hadzsiev**, M Czako, B Melegh, A Tészas, G Kosztolanyi. Mutation analysis of MECP2 and determination of the X-inactivation pattern in Hungarian Rett Syndrome Patients. *Eur J Hum Genet* 2004,12(suppl 1):92. **IF:2,741**

R. Kellermayer, M Czako, **K Hadzsiev**, P Gyuris, A Kozari, G Kosztolanyi. Y;autosomal translocation or cryptic tissue mosaicism in a boy with 45,X0? *Eur J Hum Genet* 2004,12(suppl 1):130. **IF:2,741**

**K Hadzsiev**, M Czako, B Veszpremi, G Kosztolanyi. Mosaic 21 trisomy with varying ratio observed by prenatal screening. *Eur J Hum Genet* 2005,13(suppl 1):183. **IF:3,251**

**Összesített impakt faktor idézhető absztraktok nélkül: 28,214**

**Összesített impakt faktor idézhető absztraktokkal: 60,618**

## **Köszönetnyilvánítás**

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla Pofessor Úrnak, hogy lehetővé tette a PhD programba való bekapcsolódásomat. Köszönöm figyelmét, bátorítását, szakmai irányítását és bírálatait.

Köszönöm Dr. Kosztolányi György Professzor Úrnak, hogy mindig, minden kérdéssel bizalommal fordulhattam hozzá.

Köszönetet mondok kollégáimnak, első sorban Dr. Czakó Mártának, Dr. Maász Anitának és Dr. Polgár Noéminek minden segítségükért, illetve az Orvosi Genetikai Intézet minden munkatársának az együtt végzett munkáért.

Végül köszönöm férjemnek, szüleimnek és gyermekeimnek türelmes szeretetüket és derűjüket, amiből minden nehéz pillanatban erőt meríthettem.