

VÉGTAGFEJLŐDÉSI RENDELLENESÉGEK KLINIKAI ÉS GENETIKAI VIZSGÁLATA

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. Tészás Alexandra

Témavezető: Dr. Kosztolányi György, egyetemi tanár

Programvezető: Dr. Melegh Béla, egyetemi tanár



PTE ÁOK

Orvosi Genetikai Intézet

2010

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

bp – bázispár

CGH – comparative genomic hybridisation

Chr – kromoszóma

DNS – dezoxi-ribonuklein-sav

FISH – fluorescent in situ hybridisation

HOS – Holt Oram szindróma

Kb – kilobázispár

Mb – megabázispár

OBSI KMO – Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet, Kéz- és Mikrosebészeti Osztály

pc - percentilis

PCR – polymerase chain reaction

PTE OGI – Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézet

SRPD – short rib polydactylia

STS – short tandem segments

TBX – T-box

TF – transzkripció faktor

I. BEVEZETÉS

A fejlődés mechanizmusa a biológia egyik legalapvetőbb kérdése. Az embernél, a többsejtű élőlényekhez hasonlóan az egyedfejlődés során a megtermékenyített petesejtből, a zigótából alakulnak ki a különböző működésű és szerkezetű sejtfeleségek, szövetek, szervek. A tudomány régóta próbálja kideríteni, hogy a folyamat milyen szabályozó mechanizmusok útján ismétlődik újra és újra minden egyedben, mi biztosítja egyetlen sejtől az egészséges felnőtt egyed kialakulását, és mi az oka az időnként bekövetkező változásoknak, rendellenességeknek.

A végtagfejlődési rendellenességek a veleszületett elváltozások mindössze kis hányadát képezik – nemzetközi adatok alapján előfordulási arányuk ~10 / 10 000 újszülött – jelentőségük mégis nagy. Emberemlékezet óta ismert, feltűnő elváltozások, amelyek nagymértékben befolyásolják a mindennapi életet, okuk azonban máig nagyrészt ismeretlen. A végtagok összetett, bonyolult fejlődése, illetve a hibás fejlődés következtében kialakuló, szabad szemmel is látható, könnyen, objektíven vizsgálható elváltozások kiváló modellt nyújtanak a fejlődés megértéséhez, valamint a fejlődési rendellenességek hátterének feltárásához.

A tudomány mai állása alapján a végtagfejlődési rendellenességek genetikai háttere nagyrészt ismeretlen. Kromoszómális eredetű tünetegyüttesek, monogénes szindrómák esetén a jellegzetes végtag eltérések a társuló tünetekkel egyetemben segíthetnek a klinikai diagnózis felállításában, esetleg genetikai vizsgálatok tervezésében. Izolált végtagfejlődési rendellenességek esetén a szóba jövő ismert gének száma kb. tízre tehető, amelyek mutációi az esetek elenyésző hányadában mutathatók ki.

Az egyedfejlődésben, beleértve e végtag fejlődését is, jól ismert többek között az úgynevezett transzkripciós faktorok szerepe, amelyek a génexpresszió szabályozásán keresztül – kontrollálni képesek más fehérjék képződését és működését. Szükségesek különböző szövetek, szervek kialakulásához, a normális egyedfejlődéshez. A transzkripciós faktorok szerepet játszanak a sejtnövekedés, -szaporodás, -differenciálódás folyamataiban, befolyásolják a differenciált szövetek normális működését, a szövetspecifikus génexpresszió szabályozását. Mindebből következik, hogy az élő szervezetek kialakulásában, működésük fenntartásában létfontosságúak, s hogy a génjeikben bekövetkező mutációk többnyire halálos kimenetelűek. Ismert azonban, hogy elégtelen működésük nemcsak letális következménnyel járhat. Szerepük lehet többek között fejlődési rendellenességek (pld.: kéz-láb-genitalia szindróma), mentális retardációval járó, összetett szindrómák kialakulásában (pld.: Feingold szindróma). Az utóbbi években számos öröklődő elváltozás, genetikai szindróma hátterében mutattak ki transzkripciós faktort érintő mutációkat, fokozódó figyelmet

irányítva a testi, szellemi, növekedési zavarok, továbbá szervi – különösen a csontrendszert, végtagokat, koponyát, de a belszerveket is érintő – fejlődési rendellenességek és a transzkripciós faktorok közti kapcsolatra.

A fejlődési rendellenesség háttérében álló ok azonban igen összetett lehet, meghatározása nem könnyű feladat. Fontos szerepe van a részletes **klinikai kivizsgálásnak**, a rendellenesség minél pontosabb besorolásának. Hasonló esetek összegyűjtése, **adatbankok** létrehozása révén közelebb juthatunk a közös eredet feltárásához. A **legújabb genetikai módszerek** pedig lehetővé teszik a kromoszómák szintjétől egészen a gének, bázispárok felbontási szintjéig terjedő vizsgálatokat.

II. CÉLKITŰZÉSEK

A végtag fejlődésének és fejlődési rendellenességeinek megértését célzó tudományos érdeklődés vezetett minket ahhoz a célkitűzéshez, hogy elindítsunk egy átfogó vizsgálati protokollt, amely közelebb juttathat minket a fejlődési rendellenességek háttérének megismeréséhez, a diagnosztika és prognosztika fejlődésén át a megelőzés és a jövőben talán az érdemi kezelés megvalósításához.

A kutatás kezdetekor a következő célokat tűztük ki:

1. Vizsgálati anyag összeállítása, adatbázis szerkesztése

Első lépésként létre kívántunk hozni egy könnyen kezelhető és gyarapítható, összefoglaló adatbázist, amely lehetővé teszi a hasonló esetek összehasonlítását, valamint a vizsgálatok nyomon követését.

2. Klinikai kivizsgálási protokoll létrehozása

Célul tűztük ki egy olyan kivizsgálási protokoll meghatározását, amely követi a legújabb irodalmi ajánlásokat, támpontot jelent minden egyes eset kivizsgálásához, így lehetővé teszi a betegek azonos szempontok alapján történő értékelését és besorolását, segítséget nyújt a társuló tünetek felismeréséhez, s végső soron elegendő adatot nyújthat fenotípus-genotípus összehasonlító elemzésekhez.

3. Besorolás, csoportosítás

A fenotípus pontos meghatározásához, ezáltal a genetikai vizsgálat megtervezéséhez szükségesnek láttuk egy egységes besorolási rendszer kialakítását, amely a beteganyagot jól átláthatóvá, kezelhetővé teszi, ezáltal megkönnyítve számunkra a genetikai szempontból legérdekesebb betegek kiválasztását, valamint további vizsgálatok tervezését.

4. Genetikai vizsgálati protokoll létrehozása

Olyan genetikai vizsgálati protokoll kidolgozását tűztük ki célul, amely a legrövidebb úton, leghatékonyabban vezethet a háttér feltárásához. Ennek megvalósításához mind a hagyományos, klasszikus molekuláris és citogenetikai módszerek, mind a legújabb technológiák bevonását terveztük.

5. Egyes gének (transzkripció faktorok) kiemelt vizsgálata

Célkitűzéseink közé tartozott, hogy a végtagfejlődésben szerepet játszó összetett génikus rendszerből kiemeljünk bizonyos géneket részletesebb elemzésre. Erre leginkább a transzkripció faktor családok tagjait kódoló gének tűntek ígéretesnek. A végtagfejlődésben játszott kiemelt szerepe miatt választottuk ki végül e géncsaládot részletesebb elemzés céljából, mind izolált végtagfejlődési rendellenességek, mind összetett tünetegyüttesek esetén.

6. Fenotípus-genotípus összefüggések vizsgálata

Céljaink közé soroltuk végül mindezen vizsgálataink során nyert eredmények fenotípus-genotípus összefüggéseinek megfigyelését és leírását.

III. MÓDSZEREK

1. Adatbázis, beteganyag kiválasztása

2005-ben indítottuk el a magyarországi végtagfejlődési rendellenességgel születettek gyűjtését, klinikai, illetve genetikai vizsgálatát. Első körben intézetünkben, a PTE ÁOK Orvosi Genetikai és Gyermekefejlődéstani Intézetében, az elmúlt 14 évben (1993-2007) megfordult betegek közül választottuk ki azokat, ahol a végtag fejlődési rendellenessége a klinikai leírásban említésre került.

2006-ban vettük fel a kapcsolatot az Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet Kéz- és Mikrosebészeti Osztályával, amely intézet az országban előforduló, korrekciós műtetre szoruló öröklött és szerzett kézfejlődési rendellenességek jelentős hányadát látja el. Az elmúlt 4 év (2003-2007) során ellátott betegek közül válogattuk ki a veleszületett eseteket további elemzésre. Az összegyűjtött információkat egy adatbázisban összegeztem.

2. Klinikai kivizsgálás, kérdőív

Az összegyűjtött, végtagfejlődési rendellenességgel születettek számára kidolgoztunk egy részletes kérdőívet, valamint egy kivizsgálási protokollt, amely magában foglalja a részletes klinikai vizsgálatot, szükség esetén társszakmák bevonásával.

3. Besorolás, csoportosítás

A genetikai vizsgálatok tervezéséhez fontos a fejlődési rendellenesség pontos besorolása. Az egyes esetek elemzése során klinikai (morfológiai, topológiai), ill. fejlődéstani szempontokat is figyelembe vettünk.

Ahol lehetőségünk nyílt rá mind a négy végtagot részletesen megvizsgáltuk. Megállapítottuk mely végtagok érintettek, van-e számbeli, alakbeli, növekedésbeli eltérés; az adott végtag mely tengelyét és milyen szöveteket érint. Vizsgáltuk továbbá egyéb szervek érintettségét, különös tekintettel a szív, a vese, valamint a központi idegrendszer defektusaira.

A végtagfejlődési rendellenességek csoportosítására számos, az irodalomban leírt lehetőség adódott. Ebből adódóan egy olyan osztályozási rendszert próbáltunk szerkeszteni, ami a klinikai tüneteken alapul, de tekintettel van a legújabb fejlődéstani ismeretekre, s alkalmas a genetikai háttér vizsgálatának tervezésére. Mindehhez a kézsebészetben világszerte elfogadott Swanson féle csoportosítási rendszert választottuk alapul. Tapasztalatainkat folyamatosan értékelve, elsősorban az egyszerűsítés és célhoz kötöttség érdekében, az egyes csoportokat és alcsoportokat folyamatosan formálva alakítottuk a rendszert, saját igényeinknek megfelelően.

4. Genetikai vizsgálómódszerek

A részletes klinikai kivizsgálás, besorolás után, egy válogatott beteganyagot érintve kerültek sorra a gondosan megtervezett genetikai vizsgálatok. Első lépésben, a legtöbb esetben rutin citogenetikai vizsgálatot, ennek negatívítása esetén fluorescens in situ hibridizációs (FISH) vizsgálatot végeztünk. A citogenetikai módszerek mellett további molekuláris genetikai módszereket is alkalmaztunk. Kisebb, szubmikroszkópikus deléciók, duplikációk kimutatására alkalmas technika az arrayCGH – végzésére fél éves Dániában töltött tanulmányutam alkalmából nyílt lehetőségem. Indokolt esetekben az irodalmi adatok alapján leggyanúsabb génjelöltek szekvenálását végeztük el. Előfordult olyan eset, ahol a szekvenálást STS marker analízis előzte meg. Egy-egy esetben indikáltunk továbbá úgynevezett teljes genom kapcsolt öröklődés vizsgálatot, valamint homozigóta térképezést.

IV. EREDMÉNYEK

1. Összegyűjtött beteganyag

Összesítve 202 eset került be adatbázisunkba. A betegekről szóló összesített adatokat egy adatbázisba vittem be, majd az összegyűjtött információkat összegeztem. Az érintettek különböző szempontok alapján történt csoportosítását a könnyebb áttekinthetőség érdekében táblázatban foglaltam össze (1. táblázat).

2. Besorolás, csoportosítási rendszer

A Swanson által kidolgozott besorolási rendszer némi módosításával egy, a betegek osztályozására a mindennapi gyakorlatban alkalmas táblázatot nyertünk (2. táblázat). Az átláthatóság érdekében különválasztottam a fejlődéstani, illetve topológiai besorolást, valamint létrehoztam egy új, a klinikai terminológiában segítséget nyújtó oszlopot.

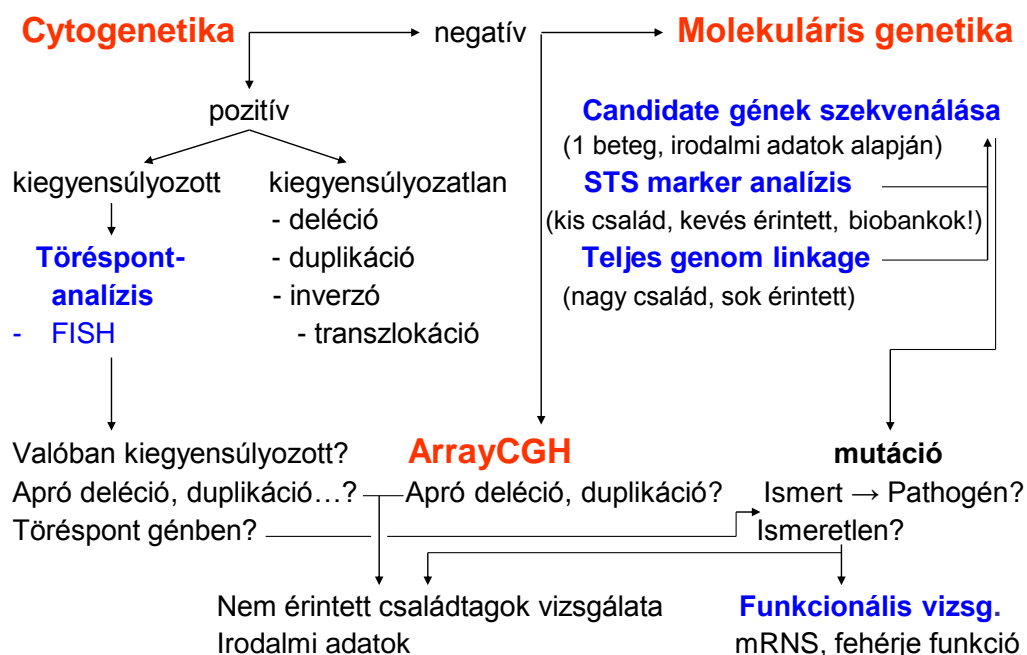
3. Genetikai vizsgálati protokoll

Kidolgoztam egy genetikai kivizsgálási protokollt, amely magában foglalta a klasszikus citogenetikai és molekuláris technika mellett a

legújabb genetikai módszerek lehetőségét is (1. ábra). Összesen 35 esetben nyílt lehetőségünk valamilyen szintű genetikai vizsgálat elvégzésére.

1. táblázat: Összefoglaló adatok, különböző szempontok alapján

Beteganyag forrása	OBSI KMO	118	Nem szerinti megoszlás	♂	109		
	PTE OGI	84		♀	93		
Információk forrása	Személyes vizsgálat	34	Családi anamnézis	Pozitív (végtagfejlődési rendellenességre)	43		
	Kérdőív	32		Negatív	73		
	Korábbi orvosi papírok	136		Közeli hozzátartozókra nézve negatív, további adatok nem ismertek	86		
Egyéb tünetek	Vannak	58	Szindrómába sorolható		44		
			Ismeretlen asszociáció / tünetegyüttes		14		
	Nem ismertek	144					
Mely végtagok érintettek	Bal felső	125	Hány végtag érintett	Négy	31	Három	5
	Jobb felső	132		2 felső	53	2 alsó	7
	Bal alsó	51		1 felső	89	1 alsó	9
	Jobb alsó	44		1 felső és 1 alsó		8	



1. ábra: Genetikai kivizsgálás menete (saját ábra)

2. táblázat: A beteganyag klinikai-fejlődéstani alapon nyugvó csoportosítása (saját táblázat, Swanson nyomán)

Pathomechanizmus	Topológia	Klinikai terminológia
I. Velezületett lefűződés	<i>Transzverz defektus:</i> <ul style="list-style-type: none"> - váll, kar - alkar - kéz - ujjak 	Amelia Hemimelia Phocomelia Acheiria Oligodactylia Ectrodactylia Brachydactylia Synbrachydactylia
II. Fejlődés leállása	<i>Longitudinális defektus:</i> <ul style="list-style-type: none"> - radiális (preaxialis) - középső (centrális) - ulnaris (postaxiális) 	
III. Alulnövekedés	<ul style="list-style-type: none"> - teljes végtag - teljes kéz - kéztő / kézközép - ujjak 	
IV. Duplikáció	<ul style="list-style-type: none"> - teljes végtag - humeralis szegment - radialis / ulnaris szegment - ujjak preaxialis, centrális, postaxiális - phalanxok 	Tükörkéz Polydactylia Synpolydactylia Triphalangealis hüvelyk
V. Túlnövekedés	<ul style="list-style-type: none"> - teljes végtag - teljes kéz - kéztő / kézközép - ujjak 	Hemihypertrophia Macroductylia
VI. Differenciálódás zavara	<i>Lágyrész érintettség:</i> <ul style="list-style-type: none"> - disszeminált - váll - könyök / alkar - csukló / kéz <i>Csontrendszer érintettség:</i> <ul style="list-style-type: none"> - váll - könyök - alkar - csukló / kéz 	Arthrogryposis Camptodactylia „Thumb in palm” Syndactylia Synostosis Symphalangia Clinodactylia
VII. Generalizált csontrendszeri eltérés	Generalizált	Achondroplasia Marfan szindróma ...

4. Kiválasztott esetek elemzése (esettanulmányok)

Munkatervünket a humán genetikai kutatások azon vonulata szerint állítottuk össze, amely egyedi esetek részletes klinikai és genetikai elemzése nyomán kíván eljutni általánosítható megfogalmazásokhoz. Az eredmények ismertetésére ezért, többek között, esettanulmányokat választottam ki.

4.1. Izolált végtagfejlődési defektusok

Izolált végtagfejlődési defektusok esetén mindössze tízre tehető azon gének száma, amelyek károsodása bizonyított különböző rendellenességek kialakulásában. Ismereteink hiányosságát jelzi, hogy 142 izolált esetünkben mindössze kb. 20-25 betegnél merült fel a 10 gén bármelyikének szerepe. Genetikai vizsgálatra előfordulásuk ritkaságából adódóan az érintettek elenyésző hányadánál volt lehetőségünk. Kiemelten vizsgáltunk egy izolált, négy végtagi eltéréssel járó, családi halmozódást mutató esetet.

Izolált tetramelikus postaxialis oligodactylyia

A vizsgált családban egy izolált, mind a négy végtagot az 5. ujjugarban érintő, oligodactyliával járó állapot öröklődött autoszomális domináns módon az anyukától a kisfiúra és kislányára (2. ábra). Az eset külön érdekessége ritkasága, az irodalomban mindössze egy hasonló esetet közöltek napjainkig.



2. ábra: A kisfiú (3 éves) kezéről készült fotó és röntgenfelvétel

Az elvégzett citogenetikai és molekuláris vizsgálatok negatív eredményét követően indikáltuk a BAC DNS alapú, kb. 1 Mb felbontású arrayCGH analízist. Az eljárás mindhárom érintettben feltárt egy apró duplikációt (7q36.3), amelyet ez idáig nem közöltek mint normális polimorfizmust (Database of Genomic Variants). Az adott régió két, a végtagfejlődésben fontos szerepet játszó gént is tartalmaz (*LMBR1* – „limb region 1 homolog”, *HLXB9* – „homeobox HB9”), amely valószínűsíti a duplikáció szerepét a végtageltérés kialakulásában.

4.2. Összetett tünetegyüttesek

Összetett tünetegyüttesek esetén a kapcsolódó tünetek, dysmorphiás jelek lehetővé teszik a diagnózis pontosabb behatárolását, ezáltal lehetőséget adva genetikai vizsgálatok tervezésére.

A következőkben vizsgálataink közül néhány, végtagfejlődési rendellenességgel járó, összetett tüneteket mutató esetet emelnék ki.

4q deléciós szindróma

A 4q deléciós szindróma egy ismert kromoszómális eltérés, az irodalomban több esetet leírtak már. A legjellemzőbb tünetek közé tartozik az ulnaris sugárba eső végtagfejlődési rendellenesség (redukció), egyéb végtagot érintő anomáliák mellett. Két eltérő méretű 4q delécióval járó esetet vizsgáltunk, a 4q deléciós szindrómának megfelelő, bár eltérő súlyosságú tünetekkel, illetve az ulnaris sugárba eső különböző fokú végtagfejlődési rendellenességgel. A klinikai vizsgálatok, valamint a G-sávok kromoszóma analízissel kimutatott, FISH módszerrel alátámasztott eredményeink lehetővé tették az egyes génszakaszokra jellemző, ez idáig nem közölt fenotípus-genotípus összefüggések megfogalmazását (3. táblázat).

3. táblázat: 4q deléciós szindrómára jellemző, illetve egyéb jelenlévő tünetek két esetünkben

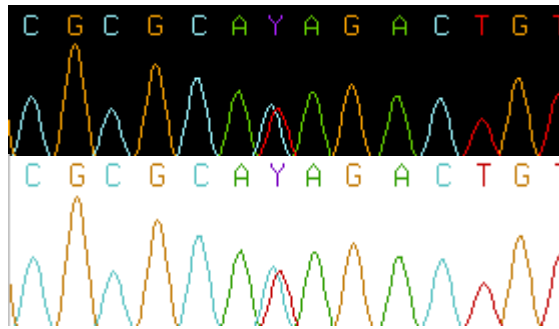
4qter deléciós szindróma jellemző tünetei	1. eset	2. eset
Ajak- / száypadhasadék	+	+
Micrognathia	+	+
Epicanthus	-	-
Mongoloid szemrés	-	-
Kicsi orr előre álló orrnyílások	-	-
Fejlődésbeni elmaradás	-	+
Szívfejlődési rendellenesség	+	-
Végtagfejlődési rendellenesség (ulnaris)	+	+
Egyéb meglévő tünetek		
Gyakori fertőzések (középfülgyulladás)	+	+
Sacralis deformitás	+	-
Ankyloglossia	+	-
Epilepszia	-	+

Feingold szindróma

A Feingold szindróma egy autoszomális domináns módon öröklődő elváltozás, amelynek a legfőbb jellemzői a microcephalia, végtagfejlődési rendellenesség, nyelőcső és nyombél szűkület, tanulási nehézség / mentális retardáció különböző kombinációi. A háttérben a MYCN transzkripciós faktor

génjének mutációja állhat. Tanulmányomban két, egymástól független Feingold szindrómás beteget emeltem ki, egy enyhébb tünetekkel járó izolált esetet, valamint egy családot, ahol a fiúgyermeknél a szindróma klasszikus tünetei, az anyánál és a nagymamánál pedig a „microcephalia - ujj abnormalitás - normális intelligencia” kórkép volt látható.

A szekvenálás minden esetben kimutatta a *MYCN* gén mutációját (3. ábra).



Glu73X
Exon 2 (*MYCN*)

3. ábra: A szekvenálás eredménye a Feingold szindrómás családban

A családot érintő esetünk rávilágít a *MYCN* mutáció változatos klinikai expresszivitására, és az irodalomban elsőként bizonyítja, hogy a „microcephalia - ujj abnormalitás - normális intelligencia” kórkép a Feingold szindróma egy enyhe variánsának tekinthető.

Rövid borda – polydactylia szindróma (SRPD)

A SRPD szindróma egy ritka, autoszomális recesszív módon öröklődő, letális kórkép. A háttérben álló genetikai elváltozás a mai napig ismeretlen. Vizsgálatainkat megelőző 8 év során a PTE Gyermekklinika Perinatális Intenzív Centrumában, illetve a Szülészeti Klinika Neonatológiai Osztályán 7 családból 9 csecsemő került ellátásra SRPD IV-es (Beemer-Langer) típusával. Minden esetben megtalálhatóak voltak a szindróma legfőbb jellemzői, a hypoplasiás mellkas, rövid végtagok, polydactylia, valamint a jellegzetes radiológiai eltérés.

Minden eset korai (1,5 hónapon belüli) halállal végződött. Az összes érintett egy kb. 50-60 000-es lélekszámú dél-dunántúli roma populáció tagja volt. Bár a családok között közvetlen rokonsági kapcsolatot nem tudtunk kideríteni, felmerült a feltételezés egy úgynevezett „founder”, alapító mutáció múltbeli létrejöttéről, amely az idők során generációról generációra adódva terjedt szét e viszonylag kicsi és izolált népcsoportban.

DNS minta 4 betegtől áll rendelkezésünkre, 2 esetben a szülőktől is. E minták képezték az alapot az úgynevezett „homozigótaság térképező” vizsgálatra, amely alkalmas azon régiók kiszűrésére, amelyre mind a 4 érintett homozigótaságot mutat, azonos haplotípus mellett. Ennek megvalósításához egy 50Kb felbontást adó, SNP alapú (~16 000 SNP) Affymetrix chip volt szükséges. A legerősebb találat a 14-es kromoszóma kb. 4Mb nagyságú régiójához kapcsolódott. A szakaszon belül, a Human

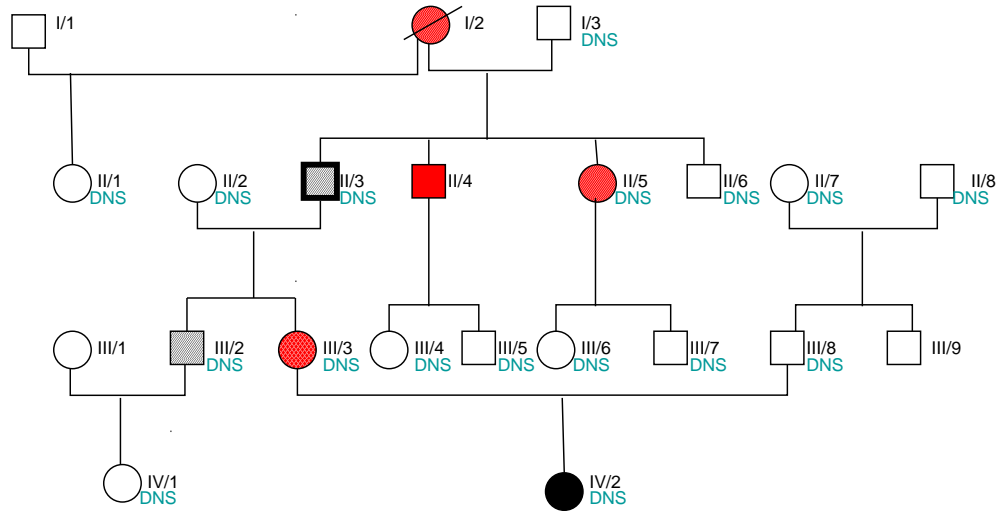
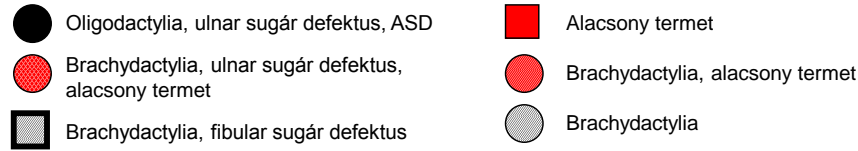
Genome Browser adatai alapján, 40 ismert gén található. A találat verifikálását STS marker analízissel végeztem el. A markerek kromoszómán való elhelyezkedése (Chr 14 bp: 56222543 – 61770134) teljes átfedést mutat a „mapping” vizsgálat eredményével. A további génvizsgálatok, a génjelöltek szekvenálása, illetve a funkcionális vizsgálatok folyamatban vannak.



4. ábra: SRPD-s betegeink végtagjairól készült fotók, illetve mellkasröntgen-felvételek

Brachydactylyia E, ulnaris-fibularis sugár defektus

A brachydactylyia E típusára az ulnaris sugárba eső metacarpusok (IV-es), valamint phalanxok rövidültsége jellemző. Az általunk vizsgált családban a brachydactylyia E típusa, illetve különböző súlyosságú ulnaris / fibularis sugár defektus autoszomális domináns öröklődésmentet mutatva jelenik meg generációról generációra, vizsgálatunk alapján már legalább 4 nemzedéket érintve (5. ábra). A klinikai képet az elsőként vizsgált, jelenleg 7 éves kislányban szívfejlődési rendellenesség komplikálta. Alacsony termet (<5pc) az esetek kb. felében volt megfigyelhető.



5. ábra: Családfa, a variábilis tünetek jelölésével

A negatív eredményű kromoszómovizsgálat, a családfa és a tünetek alapján egy autoszomális domináns öröklődésű monogénes eltérést feltételeztünk, teljes penetranciával és variábilis expresszivitással. Intézetünkben korábban mikroszatellita marker alapú „linkage” vizsgálatok történtek *TBX3*, illetve *TBX5* gének irányába, szintén negatív eredménnyel. Tanulmányunk kapcsán a családot ismételten behívtuk, klinikai kivizsgálási protokollunk alapján a család összes tagját részletesen megvizsgáltam, valamint DNS izolálás történt olyan családtagok esetén, ahonnan korábban nem származott genetikai anyag. Ennek következtében összesen 17 családtagtól, köztük 5 érintettől állt rendelkezésünkre DNS, ami lehetővé tette a teljes genom kapcsolt öröklődés vizsgálatot, 8 meiosis vizsgálatával, ami alapján azonban nem tudtuk elég szoros kapcsolatot kimutatni egy adott szakasz és az öröklődő elváltozás között. A jövőben a naprakész irodalom nyomon követése, hasonló esetek gyűjtése, a vizsgálómódszerek fejlődése teheti lehetővé a háttérben álló elváltozás kimutatását.

V. KÖVETKEZTETÉSEK

A következőkben egy-egy mondatban foglaltam össze munkánk során tett megállapításainkat, továbbá kiemeltem az egyes esetek kapcsán megfogalmazott tudományos értékű következtetéseinket.

1. Meggyőződünk róla, hogy fontos feladatunk a társszakmák tájékoztatása, figyelemfelkeltő publikációk közzétevése e ritka elváltozások háttérében álló új ismeretekről és lehetőségekről.

2. A végtagfejlődési rendellenességek besorolására, csoportosítására az általunk némileg módosított Swanson féle osztályozási rendszert ajánljuk széles körű klinikai alkalmazásra.

3. Tanulmányaink alapján végtagok fejlődési rendellenességével járó esetekben, főként összetett tünetegyüttesek kapcsán kiemelten javasoljuk transzkripciós faktorok vizsgálatát, különös tekintettel a dolgozatban említettekre.

4. Új eredményeink, tudományos értékű következtetéseink:

- A világirodalomban másodszor közöltük az autoszomális domináns módon öröklődő, *izolált tetramelikus postaxialis oligodactylia* kórképet, felhívva a figyelmet erre az új, valóban létező szindrómára. Emellett genetikai vizsgálatokkal feltérképeztünk egy, csak az érintettekben fellelhető mikroduplikációt, közelebb jutva az állapot háttérének megismeréséhez. Feltételezhető, hogy a régióban fellelhető, a végtag fejlődésében szerepet játszó gének kapcsolatba hozhatók az ez idáig ismeretlen eredetű elváltozással.

- Két *4q deléció*t mutató esetünk elemzése során, a 4q régió belül, újabb, az egyes szakaszokra jellemző fenotípus-genotípus összefüggéseket fogalmaztunk meg.

- Második, *Feingold szindrómás* betegünkénél az egész családra kiterjedő klinikai és genetikai vizsgálatok alapján bebizonyítottuk, hogy az idáig különálló szindrómaként kezelt „*microcephalia - ujj abnormalitás - normális intelligencia*” kórkép a Feingold szindróma enyhe variánsának tekinthető.

- Az autoszomális recesszív módon öröklődő, letális megbetegedés, a *rövid borda polydactylia* szindróma eseteinek elemzésével és genetikai vizsgálatával közelebb jutottunk a betegség háttérében álló, új, ez idáig ismeretlen gén feltárásához.

Végső soron az a vélemény fogalmazódott meg bennem, hogy a végtagfejlődési rendellenességek genetikai háttérének kutatása még ma is gyermekcipőben jár. A tudományos módszerek és a technika fejlődése ellenére, a kiváltó ok megnevezése, legfőképp az egzakt genetikai diagnózis kimondása nehéz, jelen tudásunk alapján az esetek többségében lehetetlen feladat. Mindezek miatt tartom szükségesnek tanulmányunk folytatását és kiterjesztését, hozzájárulva a fejlődési folyamatok és rendellenességek etiológiájának egyre pontosabb megismeréséhez.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

A dolgozat témájában megjelent közlemények

1. **Tézsás A**, Kárteszi J, Kosztolányi Gy. Új lehetőségek a fejlődési rendellenességek hátterének feltárására: transzkripciós faktorok klinikai genetikája. *Orv Hetilap* 2006; 147: 697-702.
2. **Tézsás A**, Meijer R, Scheffer H, Kosztolányi Gy, vanBokhoven H, Kellermayer R. Expanding the clinical spectrum of MYCN related Feingold syndrome. *Am J Med Genet A* 2006; 140: 2254-2256. IF: 2,063
3. **Tézsás A**. Az array CGH hazai megtelepítését célzó alapképzés. *PTE Orvostudományi Hírmondó* 2006; Dec: 30.
4. **Tézsás A**, Renner A, Melegh B, Kosztolányi Gy. Velezületett végtagfejlődési rendellenességek klinikai osztályozása. *Orv Hetilap* 2008; 149: 1167-1169.
5. Kaalund SS, Moller RS, **Tézsás A**, Miranda M, Ullmann R, Tommerup N, Tümer Z. Investigation of the chromosome 4 long arm deletion in two patients with a cryptic translocation and an interstitial deletion using array CGH. *Am J Med Genet* 2008; 146A: 2431-2434. IF: 2,555
6. **Tézsás A**, Møller RS, Tommerup N, Ullmann R, Melegh B, Kosztolányi Gy, Kjaer KW. Exclusion of *TBX2/3* mutations and copy number variations in a second family with isolated dominant tetramelic oligodactyly. *Am J Med Genet* 2009; (közlésre elfogadva).

A dolgozat témájában megjelent idézhető absztraktok

1. **Tézsás A**, Meijer R, Scheffer H, Kosztolányi Gy, vanBokhoven H, Kellermayer R. Expanding the clinical spectrum of MYCN related Feingold syndrome. *Eur J Hum Genet* 2006; 14, Suppl 1, p 124. IF: 3,697
2. **Tézsás A**, Møller R, Tommerup N, Kosztolányi Gy, Kjaer KW. The second observation of familial congenital tetramelic oligodactyly. *Eur J Hum Genet*. 2007; 15, Suppl 1, p 58. IF: 4,003
3. Kaalund SS, Moller RS, **Tézsás A**, Miranda M, Ropers HH, Ullmann R, Tommerup N, Tümer Z. Delineation of the deletion breakpoints in two unrelated patients with 4q terminal deletion syndrome. *Eur J Hum Genet* 2007; 15, Suppl 1, p 98. IF: 4,003

Más témakörben megjelent közlemények és idézhető absztraktok

1. Kárteszi J, Hollódy K, Bene J, Morava É, Hadzsiev K, Czakó M, Melegh B, **Tézsás A**, Kosztolányi Gy. Mutation analysis of MECP2 and determination of the X-inactivation pattern in Hungarian Rett syndrome patients. *Am J Med Genet A* 2004; 131: 106 IF: 0,815
2. Kárteszi J, Bene J, Hollódy K, Morava É, Hadzsiev K, Czakó M, Melegh B, **Tézsás A**, Kosztolányi Gy. Mutation analysis of MECP2 and determination of the X-inactivation pattern in Hungarian Rett Syndrome patients. *Eur J Hum Genet* 2004; 12, p 92. IF: 2,741
3. Kellermayer R, Gyarmati J, Czakó M, **Tézsás A**, Masszi Gy, Ertl T, Kosztolányi Gy. Mos 46,XX,r(18).ish r(18)(18ptel-,18qtel-)/46,XX.ish del(18)(18ptel-): An example for successive ring chromosome formation. *Am J Med Genet A* 2005; 139A: 234-235. IF: 1,913
4. **Tézsás A**, Pfund Z, Morava E, Kosztolányi Gy, Sistermans E, Wevers RA, Kellermayer R. Presenile cataract: consider cholestanol. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 1490-1492. IF: 3,206
5. Willemsen M, Rodenburg RJ, **Tézsás A**, van den Heuvel L, Kosztolányi Gy, Morava E. Females with PDHA1 gene mutations: A diagnostic challenge. *Mitochondrion* 2006; 6: 155-159. IF: 2,191
6. Young AL, Kellermayer R, Szigeti R, **Tézsás A**, Azmi S, Celebi JT. CYLD mutations underlie Brooke-Spiegler, familial cylindromatosis, and multiple familial trichoepithelioma syndromes. *Clin Genet* 2006; 70: 246-249. IF: 3,140
7. Süle N, **Tézsás A**, Kálmán E, Szigeti R, Miseta A, Kellermayer R. Lithium suppresses epidermal SERCA2 and PMR1 levels in the rat. *Pathol Oncol Res* 2006; 12: 234-236. IF: 1,241
8. Szigeti R, Chao S, Szász O, **Tézsás A**, Kosztolányi Gy, Kellermayer R. Premenstrual exacerbation in calcium ATPase disorders of the skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007; 21: 412-413. IF: 1,437
9. **Tézsás A**, Møller RS, Kárteszi J, Czakó M, Kjaer KW, Kosztolányi Gy, Tommerup N. Significance of molecular chromosome analyses in the clinical interpretation of apparently balanced translocations. *Cellular Oncology* 2007; 29: 161-162. IF: 4,170
10. **Tézsás A**, Møller RS, Kellermayer R, Czakó M, Kjaer KW, Ullmann R, Melegh B, Tommerup N, Kosztolányi Gy. A cryptic unbalanced translocation resulting in del13q and dup15q. *Am J Med Genet* 2008; 146A: 2570-2573. IF: 2,555
11. Hadzsiev K, **Tézsás A**, Kárteszi J, Kosztolányi Gy. Anyagcserebetegségek és dysmorphia. *Gyermekgyógyászat* 2008; 59: 25-28.
12. Czakó M, **Tézsás A**, Kárteszi J, Hadzsiev K, Kosztolányi Gy. A kromoszómavizsgálatok haszna a szindromatológiában. *Gyermekgyógyászat* 2008; 59: 29-33.

Kongresszusi előadások

1. **Tézsás A**, Kárteszi J, Kosztolányi Gy. The clinical genetic significance of transcription factors/ Transzkripció faktorok klinikai genetikai jelentősége VI. Magyar Genetikai Kongresszus (Eger, 2005. április).
2. **Tézsás A**. Genetests in limb developmental defects/ Génvizsgálatok végtagfejlődési rendellenességekben. Genetikai Műhelyek Magyarországon (5. minikonferencia) (Szeged, 2006. szeptember).
3. **Tézsás A**. Genetests in congenital postaxial limb developmental defects/ Génvizsgálatok öröklődő postaxialis végtagfejlődési rendellenességekben. Magyar Humángenetikai Társaság VI. Kongresszusa (Győr, 2006. október).
4. **Tézsás A**. The examination of the genetical background in limb developmental abnormalities. Marie Curie Conferences and Training Courses on arrayCGH and Molecular Cytogenetics. (Ghent, Belgium, 2006. október).
5. Kárteszi J, Bene J, Hollódy K, Morava É, Hadzsiev K, Czakó M, Melegh B, **Tézsás A**, Kosztolányi Gy. The mutation analysis of the MECP2 gene and the study of X-inactivation pattern in Rett syndrome patients/ Rett szindrómás betegek mutáció analízise és X-inaktivációs vizsgálata. Magyar Humángenetikusok V. Munkakonferenciája (Szeged, 2004. november).
6. Hadzsiev K, **Tézsás A**, Kosztolányi Gy. Syndrome and its background/ Szindróma és ami mögötte áll. Anyagcserebetegségekről gyermekorvosoknak (tanfolyam) (Győr, 2007. február).
7. **Tézsás A**, Oláh A, Mosdósi B, Kárteszi J, Adamovich K, Kosztolányi Gy. The severe, lethal form of Smith-Lemli-Opitz syndrome (type II.)/ A Smith-Lemli-Opitz szindróma súlyos, letális formája (II-es típus). Anyagcserebetegségekről gyermekorvosoknak (tanfolyam) (Győr, 2007. február).

Összesített impakt faktor (idézhető absztraktok nélkül): 25,286.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Kosztolányi Györgynek, aki a kezdetektől fogva támogatott, és akihez bármikor bizalommal fordulhattam kérdéseimmel.

Továbbá köszönöm Dr. Kellermayer Richárdnak, hogy tanított és lehetőséget adott a közös munkára, valamint Dr. Klaus W. Kjaernek aki a Dániában eltöltött gyakorlatom során nyújtott segítséget, valamint irányt mutatott dolgozatom témájához.

Köszönetet mondok Dr. Melegh Bélának, a PhD program vezetőjének, támogatásáért és a lehetőségért, hogy az elmúlt éveket a munkámnak szentelhettem.

Szeretném megköszönni Dr. Kárteszi Juditnak és Dr. Czakó Mártának, hogy egyetemi éveim óta töretlen lelkesedéssel és türelemmel tanítottak és biztattak, és nem utolsó sorban barátként is mellettem álltak.

Köszönettel tartozom továbbá az Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézet minden munkatársának, nem csupán szakmai segítségükért, hanem a baráti légkörért is, amiben együtt dolgozhattunk.

A legtöbb hálával családomnak tartozom, szeretetükért és türelmükért, legfőképp férjemnek és szüleimnek, akik támogatásukkal lehetővé tették, hogy idáig eljuthassak és megvalósíthassam céljaimat.