

Fogászati és maxillofaciális manifesztációkkal társuló ritka betegségek fenotípusos és molekuláris genetikai vizsgálata

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Antal Gréta



Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Humán Molekuláris Genetika Program

Doktori Iskola és Programvezető: Prof. Dr. Gallyas Ferenc

Témavezető: Dr. Berenténé Dr. Bene Judit

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Genetikai Intézet

Pécs, 2024

1. BEVEZETÉS

A ritka betegségek az alacsony prevalenciájú, az életet veszélyeztető illetve tartós funkcióvesztéssel járó kórképeket illetve gyakori betegségek ritka kombinációját foglalják magukba.

A ritka betegségek jeleit és tüneteit a sokféleség jellemzi. Gyakran késlelteti a diagnózis felállítását, valamint az esetleges kezelések megkezdését, hogy a ritka betegségek nem specifikus tünetekkel járhatnak együtt. Számos ritka betegségnek vannak fogászati manifesztációi. Egyes adatok szerint közel 900 genetikai szindróma klinikai képében szerepel fogászati vagy oro-maxillofaciális anomália, melyek nagy százaléka ektodermális eredetű.

A fogászati fejlődési rendellenességek származhatnak az odontogenezis során fellépő teratogén hatásokból, valamint genetikai rendellenességekből, elszigetelten vagy egy szindróma részeként más tünetekhez társulva. Bizonyos esetekben a fogászati rendellenességek lehetnek a legszembetűnőbb tünetek, így először diagnosztizálhatók, míg a különböző szerveket érintő egyéb manifesztációk csak később jelentkeznek. Ezeknek az anomáliáknak mind funkcionális, mind esztétikai vonatkozásai lehetnek. A fogászati és szájüregi rendellenességek jelenléte extraorális tünetekkel együtt sokszor megkönnyíthetik a ritka genetikai szindrómák korai diagnosztizálását. Ezért nagyon fontos a fogorvosoknak tisztában lenniük a ritka betegségek létezésével, rendellenességek klinikai megjelenésével, azok korai felismerésével, melyek hátterében akár komoly betegség rejtőzhet.

Kutatásunkban három, fogászati és/vagy maxillofaciális anomáliákkal társuló ritka betegség, nevezetesen a Gardner szindróma, a Treacher Collins szindróma és a Noonan szindróma fenotípusos és molekuláris genetikai vizsgálatával foglalkoztunk. A kutatás célja ezen betegcsoportokban előforduló fogászati manifesztációk típusának, előfordulási gyakoriságának meghatározása, továbbá geno-fenotípus adatok elemzésén keresztül esetleges prognosztikus markerek azonosítása.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Fogászati rendellenességek

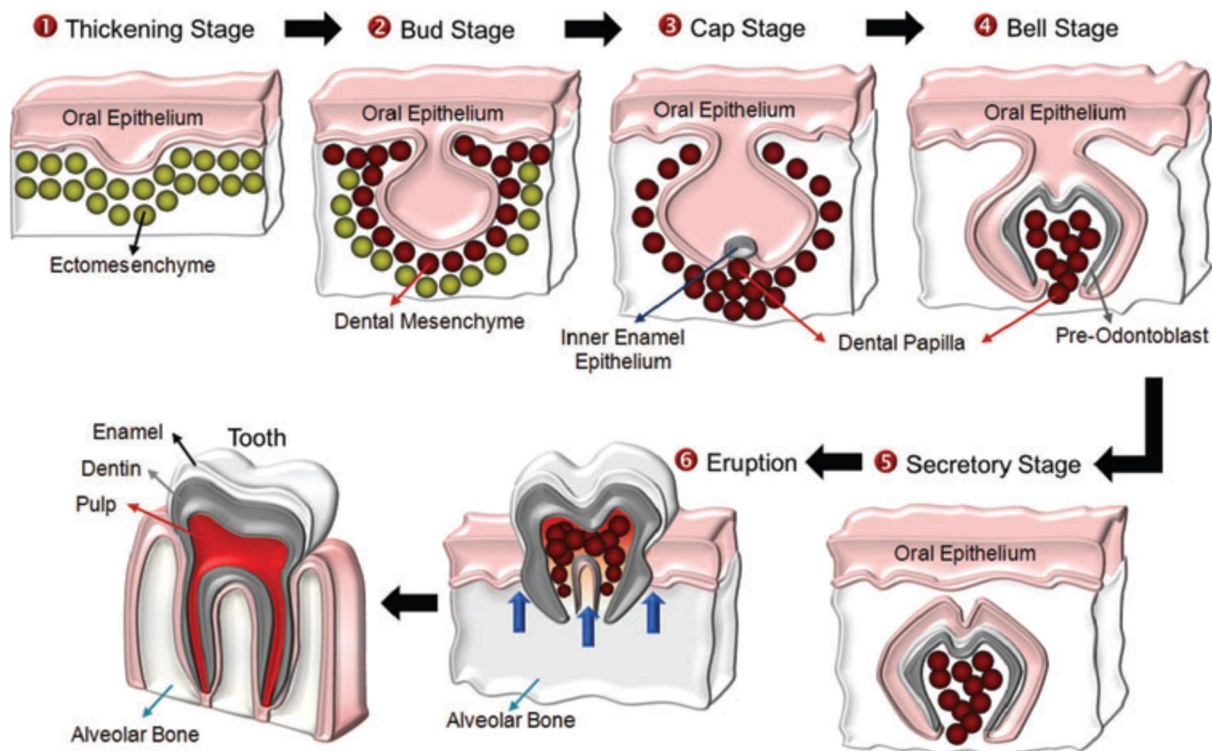
A fogak a maxillofacialis régió speciális szerve, fejlődésük hosszadalmas és összetett folyamat. Fejlődésüket genetikai és környezeti tényezők egyaránt befolyásolják. A ritka genetikai betegségek korai diagnózisát elősegíthetik a figyelmeztető fogászati, orofaciális anomáliák. Ezek a fogászati eltérések egy vagy több tejfog, ill. maradó fog külső megjelenésének, belső szerkezetének vagy topográfiájának megváltozásából állnak, amelyek genetikai eredetű, veleszületett vagy szerzett rendellenességből erednek. A fogak számát, helyzetét, szerkezetét és alakját bizonyos gének összetett rendszere szabályozza, amelyek módosulása fogászati rendellenességeket eredményezhet. Attól függően, hogy a fogak fejlődésének mely szakaszában történik a változás, különböző fogászati rendellenességek fordulhatnak elő, amelyek a fogak számát (anodontia, hypodontia és hyperdontia), szerkezetét (amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta és dentin dysplasia) és alakját (mikrodontia, makrodontia és taurodontia) érinthetik. A fogászati fejlődési rendellenességek származhatnak az odontogenezis során fellépő teratogén hatásokból, valamint genetikai rendellenességekből, elszigetelten vagy szindróma részeként (1. táblázat) más tünetekhez társulva.

1. táblázat Fogászati/craniofaciális manifesztációkkal társuló szindrómák és azok genetikai háttere

Fogászati/craniofaciális eltérés	Szindróma	OMIM szám	Genetikai eltérés (gén/lókuszt)
Hyperodontia			
	Cleidocraniális dysplasia	119600	<i>RUNX2</i> (6p21.1)
	Gardner szindróma	175100	<i>APC</i> (5q22.2)
	Down szindróma	190685	21-es triszómia
Hypodontia (oligodontia)			
	Down szindróma	190685	21-es triszómia
	Achondroplasia	100800	<i>FGFR3</i> (4p16.3)
Taurodontizmus			
	Amelogenesis imperfecta IV típus	104510	<i>DLX3</i> (17q21.33)
	Down szindróma	190685	21-es triszómia
Ajak- és szájpad hasadék			
	Kabuki szindróma	147920 300867	<i>KMT2D</i> (12q13) <i>KDM6A</i> (Xp11.3)
	Kallmann szindróma		<i>ANOS1</i> (Xp22.3)
Gingiva hyperplasia és fogászati rendellenességek	Neurofibromatosis	162200	<i>NF1</i> (17q11)
Craniofaciális anomáliák	Treacher Collins szindróma	154500 613717 248390	<i>TCOF1</i> (5q32) <i>POLR1D</i> (13q12.2) <i>POLR1C</i> (6p21.1)

2.1.1. A fogak fejlődése és a fogászati rendellenességek genetikai háttere

A fogak fejlődése több különböző sejtes és molekuláris folyamatot foglal magában. E folyamatok több szakaszból állnak (1. ábra), amelyek az embrionális állapottól kezdve a maradó fogak megjelenéséig terjednek. A tejfogak és a maradó fogak egyaránt a szájüregi ektodermából és az alatta lévő neurális mesenchymasejtekből fejlődnek.



1. ábra A fogfejlődés folyamata.

A fogfejlődést az ectomesenchyma és az orális epithelium közötti kölcsönhatás indítja el és hat egymást követő szakaszból áll: megvastagodás, bimbó, sapka, harang, szekréciós, és erupciós szakaszok. (Kim et al 2012)

Az arc- és fogászati rendellenességek egy gén vagy géncsoport mutációi következtében alakulhatnak ki, mivel a kódolt fehérje(k) expressziója vagy funkciója megváltozik. A genetikai mutációkon kívül környezeti tényezők is befolyásolhatják a gének kifejeződését, vagy megzavarhatják a fehérjetermékek normális működését. A fogak helyzetét, számát és formáját több mint 300 gén határozza meg. A *HOX* gének a leggyakrabban vizsgált gének a fogak fejlődésével kapcsolatban. A különböző fogászati anomáliák kialakulásában szerepet játszó gének a 2. táblázatban találhatók.

2. táblázat A fogászati rendellenességek kialakulásában szerepet játszó gének (Khan et al 2022)

Fogászati rendellenesség	OMIM szám	Gén(ek)
Csiráhiány (agenesia)	106600	<i>MSX1, PAX9, AXIN2, WNT10A, EDA</i>
Számfeletti fog	187100	<i>RUNX2, APC</i>
Amelogenesis imperfecta	104530	<i>AMELX, ENAM, MMP20, KLK4, DLX3</i>
Dentinogenesis imperfecta	125490	<i>DSPP</i>
Taurodontizmus	272700	<i>DLX3, MMP2</i>

2.2. Gardner szindróma

A Gardner-szindróma (GS) egy ritka autoszomális dominánsan (AD) öröklődő rendellenesség, amelyet a gastrointestinalis polyposis, multiplex osteomák, valamint kemény- és lágyrésztumorkok hármasa jellemez. A Familiaris Adenomatous Polyposis (FAP) egyik ritka klinikai altípusa, amely a FAP-betegek körülbelül 10%-át érinti. A GS több szervrendszert is érinthet, klinikai jellemzőit intestinalis és extraintestinalis manifesztációk csoportjába sorolhatjuk. A legjellemzőbb és egyben legsúlyosabb klinika manifesztáció a gastrointestinalis polyposis, a vastag és a végbél adenomatous polyposisa.

Fül-orr-gégész, fogorvos vagy maxillofacialis sebész fontos szerepet játszanak a FAP korai diagnosztizálásban, ezzel potenciálisan megmentve a páciens életét. GS-hoz kapcsoltan az esetek 30-70%-ban fogászati eltérések is jelen vannak, melyeket rutin vizsgálat és panoráma röntgen (rtg) készítés kapcsán tudunk szűrni. GS első klinikai jelei lehetnek az osteomák és az egyéb fogászati anomáliák az esetek 53%-ban. Mivel a GS egyes tünetei időben nem egyszerre jelentkeznek, ezért is nagyon fontos a fogorvos/ maxillofacialis sebész szerepe a korai diagnózis felállításában, hiszen gyakran ők találkoznak először a betegség első jeleivel.

2.3. Treacher Collins szindróma

A Treacher Collins szindróma (TCS) egy ritka, öröklődő fejlődési rendellenesség, melynek becsült incidenciája 1:50000. Az esetek 40 százalékában családi anamnézishez kapcsolódik, míg a fennmaradó 60 százalékban *de novo* mutációk felelősek a rendellenesség kialakulásáért. Az irodalom négy klinikai TCS altípust különböztet meg a genetikai háttér alapján (3. táblázat).

3. táblázat A Treacher Collins szindróma altípusainak és génjeiknek osztályozása (Marszalek-Kruk et al 2021)

Fenotípus		Gén					
TCS altípus	OMIM	Gén neve	OMIM	Öröklődés	Kromoszóma lókuszt	Kóroki variáns gyakorisága TCS-ben	Géntermék
TCS1	154500	<i>TCOF1</i>	606847	AD	5q32-q33	86 %	Treacle fehérje
TCS2	613717	<i>POLR1D</i>	613715	AD,AR	13q12.2	6%	DNS-függő RNS-polimeráz I és III, RPAC2 alegység
TCS3	248390	<i>POLR1C</i>	610060	AR	6p21.1	1,2%	DNS-függő RNS-polimeráz I és III, RPAC1 alegység
TCS4	618939	<i>POLR1B</i>	602000	AD	2q14.1	1,3%	DNS-függő RNS-polimeráz I és III, RPA2 alegység

A TCS klasszikus és ritka tüneteit illetve azok előfordulási gyakoriságait mutatja be az 4. táblázat. TCS mindkét nemben egyformán fordul elő, a deformitások súlyossága az életkorral nem növekszik. A TCS tünetei nagyon változatosak, egyénenként és családon belül is jelentős eltérést mutathatnak.

4. táblázat A Treacher Collins-szindróma klasszikus jellemzői (Marszalek-Kruk et al 2021, Vincent et al 2016)

	Tünetek	Előfordulás gyakorisága érintett egyéneknél
Nagyon gyakori	Antimongoloid szemrés Maxilla zygomatikus ívének hypoplasiája Vezetékes halláskárosodás Mandibula hypoplasiája/micrognathia	89-100 % 81-97% 83-92% 78-91%
Gyakori	A külső hallójárat atresziája Microtia Alsó szemhéj coloboma Mégkésett beszédfejlődés Arc asszimetria Preaurikuláris hajnövekedés	68-71% 10-77% 54-69% 57-63% 52% 24-49%
Ritka	Orrszonda vagy gastrostoma újszülött korban Szájpadhasadék Intubáció vagy tracheostoma újszülött korban Choanal stenosis/atresia Szívfejlődési rendellenesség	28% 21-33% 12-18% 13-25% 11 %
Nagyon ritka	Veserendellenesség Microcephalia Értelmi akadályozottság/mégkésett motoros fejlődés Végtag rendellenesség	4% 3% 1,7-10% 1,5%

2.3.1. Fogászati manifesztációk TCS-ben

A TCS-ben szenvedő betegeknél számos fogászati eltérés figyelhető meg, amelyek a craniofacialis fejlődési rendellenességekből erednek. Gyakran harapási rendellenességek is

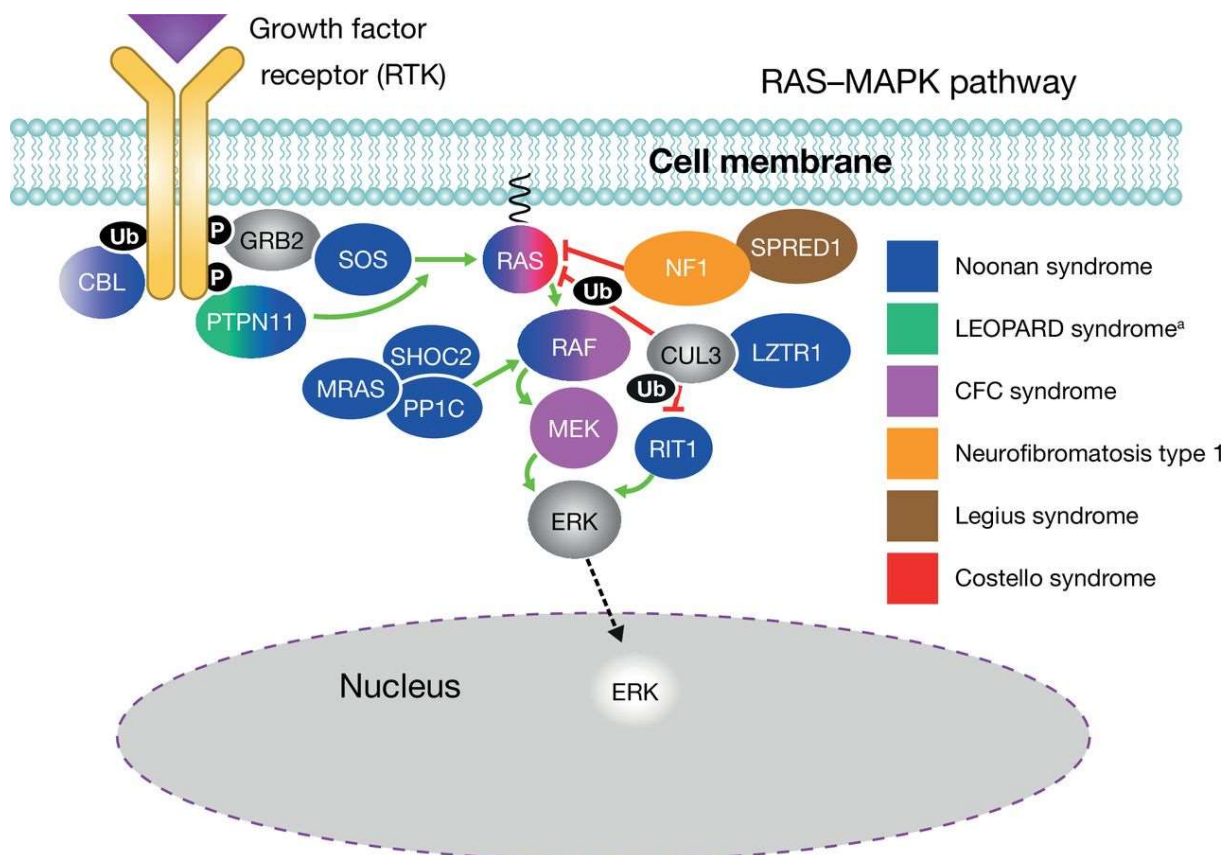
megfigyelhetők. A mandibula és a maxilla fejlődési rendellenességei miatt nyitott harapás, keresztharapás vagy egyéb harapási rendellenességek alakulhatnak ki.

2.4. Noonan szindróma

A Noonan-szindróma (NS) egy viszonylag gyakori, többnyire autoszomális dominánsan öröklődő, több szervrendszert érintő veleszületett rendellenesség.

Az NS jellemző klinikai tünetei az enyhe arcdysmophiás jegyek, alacsonynövés, veleszületett szívproblémák, leggyakrabban pulmonális stenosis formájában vagy egyeseknél hypertrophias cardiomyopathia fordul elő. Ezenkívül csontrendszeri rendellenességek (pl., mellkasi deformitások és scoliosis), cryptorchidismus férfiaknál, szemészeti rendellenességek, változatos mértékű kognitív deficit és vérzési rendellenességek is előfordulhatnak.

A Noonan-szindróma genetikai háttere a RAS-MAPK útvonal (2. ábra) rendellenességeiből fakad, amely a sejtnövekedést és differenciálódást szabályozza. Elsősorban a sejtciklus differenciálódásához, növekedéséhez és öregedéséhez nélkülözhetetlen RAS/mitogen-aktivált protein kináz (MAPK) jelátviteli útvonal mutációi okozzák.



2. ábra A RAS-MAPK jelátviteli útvonal. Kép forrása: <https://adc.bmj.com/content/107/12/1073>

3. CÉLKITŰZÉSEK

Az irodalomból ismert, hogy számos ritka betegség klinikai képében fogászati eltérések is előfordulhatnak. Kutatásunkban három ritka betegség, a Gardner szindróma, a Treacher Collins szindróma és a Noonan szindróma fogászati manifesztációinak a feltérképezését végeztük el.

A három vizsgált betegcsoportban a következő célokat határoztuk meg:

1. Atípusos tüneteket mutató Gardner szindrómás beteg és érintett családtagjainak fenotípusos és genetikai vizsgálata, a kórképben előforduló fogászati manifesztációk azonosítása.
2. Az *APC* gén különböző mutációi, azok génen belüli lokalizációja és a fogászati és/vagy csontos elváltozások közötti asszociáció feltárása irodalmi adatok felhasználásával.
3. Treacher Collins szindrómás betegcsoportban újgenerációs szekvenáláson alapuló technikával azonosított mutációk molekuláris karakterizálása, a betegek fenotípusos jellemzése, fogászati és maxillofaciális manifesztációk előfordulásának feltárása.
4. Noonan szindrómás családban előforduló fogászati manifesztációk típusainak feltárása, és összehasonlítása az irodalmi adatokkal.

4. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

4.1. A VIZSGÁLATBAN RÉSZVEVŐ BETEGEK

4.1.1 Gardner szindróma

4.1.1.1 beteg

A 17 éves nagylányt 11 éves korában a PTE Fogászati és Szájsebészeti Klinikájáról utalták be a PTE Orvosi Genetikai Intézet genetikai tanácsadójába. Fogászati vizsgálata során panoráma röntgenfelvétel készült (3. ábra), melyen csontrendellenesség ábrázolódott. Bizonytalan panaszokat okozó 3.6-os fogat műtétilag eltávolították és a fogmeder alól a kóros csontterületről mintavétel történt. A szövettani vizsgálat az állcsontokon Paget-kór szerű csontanyagcsere zavart véleményezett átépülő csontszövet kevert osteoblastos és osteoclastos aktivitással. Évekkel később a Paget-kór gyanúja miatt a 3.7 fog helyi érzéstelenítésben történő eltávolítása kapcsán újabb mintavétel történt. A korábban eltávolított 3.6-os fog gyökerének megfelelő mandibula corpus területéről corticalis és spongiosa mintavétel történt. Ekkor a beteg NGS alapú genetikai kivizsgálására került sor.

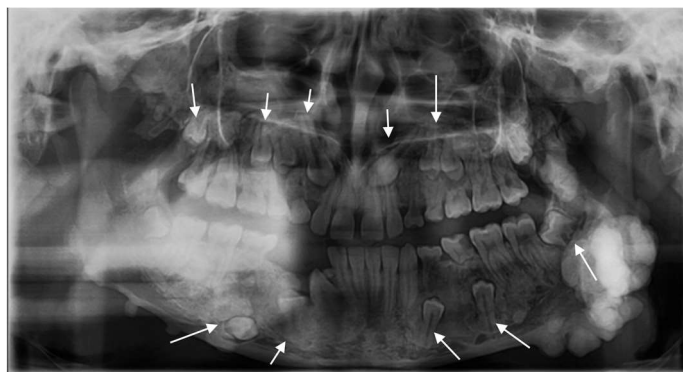


3. ábra A panoráma röntgenfelvételen impaktált fogak (kis nyilak) és radix relictak (nagy nyilak) láthatóak, a szaggatott nyíl pedig a szövettani vizsgálatra vett minta helyét jelzi. A legtöbb fogon caries látható.

4.1.1.2. beteg

A 17 éves nagylány (proband) NGS vizsgálatával egyidejűleg a proband 14 éves húga kereste fel a genetikai tanácsadót csontrendszeri és lágyyszöveti manifesztációkkal. Anamnézisében a következő adatok szerepeltek: 11 éves korában két daganatot távolítottak el a fejbőr alatti kötőszövetből a jobb oldali parietális régióból és a bal oldali occipitális régióból. A szövettani vizsgálat dermoid cystát igazolt. 14 éves korában ismét egy dermoid cystát távolítottak el bal oldali occipitális régióból. Ezzel egyidőben egy fájdalmas tumor jelent meg a mandibula bal oldalán. A radiológiai leletek Gardner szindróma gyanúját vetették fel és a beteg onkológiai ellátásra került felvételre.

A beteg fogászati kivizsgálására került sor maxillofacialis szakrendelésen multiplex mandibula exostosisok, korának nem megfelelő váltófogazati státusz végett. Extraoralis vizsgálat során a bal oldali angulus-ramus mandibulae területén duzzanat látható. Jobb oldalon basalisan kb 0.5 cm-es exostosisok tapinthatók. Intraoralis vizsgálat során váltófogazati státusz volt látható, szemfogak, premolarisok retineált pozícióban helyezkednek el (4. ábra). A CBCT (cone beam computed tomography) felvételen mandibula ramus tájékán 18-20 mm-es corticalis konzisztenciájú exostosisok voltak láthatók, melyek a spongiosa állományát nem komprimálják.



4. ábra A panoráma röntgenfelvételen számos impaktált fog látható (nyilak jelzik).

4.1.1.3. beteg

Az édesanyának is voltak csontrendszeri tünetei. A fogak agenezisét figyelték meg a mandibulában, a 9-10. bordája összenőtt, időnként állkapocs fájdalmat panaszol. A koponya CT vizsgálata során a koponyacsontokon többszörös osteoscleroticus laesio ábrázolódott. Gasztroenterológiai és onkológiai kivizsgálás még nem történt.

4.1.2 Treacher Collins szindróma

Kutatásunk második részében a Treacher Collins szindróma klinikai és molekuláris genetikai tanulmányozását végeztük el. 2003 és 2023 között hat beteg került beutalásra az Orvosi Genetikai Intézet genetikai tanácsadójába Treacher Collins szindróma gyanújával. A genetikai vizsgálatok (NGS alapú technikák, ill. célzott Sanger-szekvenálás) a hat betegből öt esetében azonosított kóroki variánst. Kutatásunkba ezt az öt beteget (két fiú és három lány, életkori tartomány: 2-29 év) vontuk be.

4.1.3 Noonan szindróma

Kutatásunk harmadik részében egy Noonan szindrómás családot vizsgáltunk. A családban az édesanya és három lánya közül kettő (14 és 12 éves) érintett a betegséggel.

4.2 MÓDSZEREK

4.2.1 DNS izolálás

A molekuláris genetikai vizsgálatokhoz a genomiális DNS-t EDTA-val alvadásgátolt perifériás leucocytaból E.Z.N.A.® Blood DNA Maxiprep Kit-tel (OMEGA®, Bio-tek, Inc., Norcross, GA, USA) izoláltuk. Az izolált DNS koncentrációját és tisztaságát NanoDrop 2000 spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) ellenőriztük.

4.2.2 Újgenerációs szekvenálás

4.2.2.1 NGS panel szekvenálás

4.2.2.1.1 Gardner szindróma

A 17 éves probandnál egy 252 gént tartalmazó Skeletal Dysplasia génpanel vizsgálat történt a Blueprint Genetics laboratóriumában, majd kiterjesztett WES vizsgálat történt.

4.2.2.1.2 Treacher Collins szindróma

Az 1-es betegnél 181 gént tartalmazó (magában foglalva a *TCOF1*, *POLRIC* és *POLR1D* géneket) Comprehensive Hearing loss and Deafness NGS génpanel vizsgálat történt a GENDIA laboratóriumában.

A P3-as és P4-es betegnél 27 gént tartalmazó (magában foglalva a *TCOF1*, *POLRIC* és *POLR1D* géneket) Facial Dysostosis and Related Disorder NGS génpanel vizsgálat történt a BluePrint Genetics laboratóriumában.

4.2.2.2 WES

A P5-ös beteg patogén variánsának azonosítása érdekében laboratóriumunkban teljes exom-szekvenálást végeztünk.

4.2.2.3. Variánsok klasszifikációja

A genomikai adatok klasszifikációjához és az adatok interpretációjához az American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) irányelveit követtük.

4.2.3. Statisztikai analízis

Az *APC* gén mutációinak lokalizációja és a fogászati és/vagy csontrendszeri rendellenességek specifikus megjelenései közötti asszociáció vizsgálatára chi-négyzet próbát is magába foglaló, leíró statisztikai elemzést végeztünk SPSS 27.0 programcsalád felhasználásával. Az egyes cellák várható értékei öt vagy annál magasabbak voltak, a szignifikancia határértéke $p < 0,05$ volt.

4.2.4. Az újonnan azonosított *TCOF1* és *POLR1D* gének variánsainak *in silico* analízise

A *TCOF1* és a *POLR1D* új variánsainak a fehérjeszerkezetre gyakorolt lehetséges hatásának vizsgálata érdekében 3D modellezést végeztünk az I-Tasser online szerver segítségével. A *TCOF1* c.1371_1372insT variáns csonka Treacle fehérjét eredményezett, a 458-as aminosav pozícióban lévő korai terminációs kodonnal. Ez a variáns drámaian megváltoztatta a fehérje szerkezetét. A *POLR1D* c.295G>C variáns glicinről argininre történő aminosavváltást eredményezett a 99-es aminosav pozícióban. A variáns a *POLR1D* fehérje egy erősen konzervált régiójában fordul elő, ami hatással van a fehérje konformációjára.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Gardner szindróma

5.1.1. Atípusos csontrendszeri és fogászati tüneteket mutató Gardner szindrómás beteg és családjának genetikai vizsgálata

Az atípusos csontrendszeri és fogászati tüneteket mutató 17 éves proband DNS mintájából külföldi kollaboráció keretében (Blueprint Genetics laboratórium) elvégzett 252 gént tartalmazó NGS alapú „Skeletal Dysplasia” génpanel vizsgálat a beteg tüneteivel összefüggő patogén variánst nem azonosított. Ezt követően egy, a teljes exom szekvenálásra (WES) kiterjesztett genetikai vizsgálatra került sor, ami végül az *APC* génben [NM_000038.6] egy, a szakirodalomban ismert kóroki eltérést, a c.4700C>G (p.Ser1567*), azonosított heterozigóta formában. A proband fiatalabb testvérének és édesanyjának mintájában a Sanger-féle szekvenálással végzett célzott mutációvizsgálat szintén kimutatta a mutációt heterozigóta formában. A betegek fenotípusa és genetikai vizsgálati eredményeik alapján megerősítést nyert a GS diagnózisa.

5.1.2 Fogászati és csontrendszeri manifesztációk és *APC* génmutációk asszociációs vizsgálata Gardner szindrómában

A kutatásunk másik részében megvizsgáltuk, hogy a saját betegeinknél, ill. az irodalomban eddig részletes fenotípus és genotípus adatokkal publikált esetekben találunk-e asszociációt a betegek által hordozott *APC* mutáció génen belüli lokalizációja valamint a fogászati és/vagy csontrendszeri manifesztációk között.

Összesen 49 olyan különböző esetet találtunk (30 különböző mutációval) az irodalomban a saját két esetünkkel együtt, ahol a betegek anamnézisében különböző fogászati és/vagy csontrendszeri rendellenességeket írtak le, valamint ismert volt a betegek által hordozott *APC* mutáció (5. táblázat). Az azonosított mutációk elhelyezkedése alapján (a fehérje N-terminális vagy középső régiója) a betegeket két csoportba soroltuk.

Az eredmények összefoglalva: míg az N-terminális doménben lévő mutációk túlnyomórészt a jelek szerint csontrendszeri rendellenességekkel társulnak, a középső doménben lévő mutációk a fogászati rendellenességek nagyobb gyakoriságának kialakulásához járulhatnak hozzá. Ezek az eredmények alátámasztják a mutáció lokalizációjának lehetséges

szerepét a fogászati és csontrendszeri rendellenességek fenotípusos kifejeződésének meghatározásában.

A polyposis fenotípust tekintve a vizsgált esetek között ugyanannyi betegnél diagnosztizáltak klasszikus FAP-ot, mint Gardner-szindrómát. A klasszikus FAP-ban szenvedő betegek többsége az N-terminális régióban hordoz mutációkat, míg a Gardner szindrómás betegek az APC fehérje középső régiójában lokalizált mutációkat hordoznak.

5. táblázat APC csírasejtes mutációk fogászati és csontrendszeri manifesztációkkal és FAP fenotípussal

	Mutáció		Nem/ Életkor	Polyposis fenotípus	Vastagbél daganat	Extraintestinalis manifesztációk		Ref	Localizáció						
	DNS	Fehérje				Fogászati eltérések	Csontos eltérések								
1	c.481C>T ^a	p.Gln161*	F/54	Classic FAP	+	-	Hs	(75)	APC-N terminális régió						
	c.481C>T ^a	p.Gln161*	N/20	Classic FAP	-	-	Os, Hs								
	c.481C>T ^a	p.Gln161*	F/18	Classic FAP	-	IT, Od	Dbi								
2	c.532-1G>A ^b	-	F/33	Classic FAP	+	-	Os, Hs	(76)		APC-N terminális régió					
	c.532-1G>A ^b	-	N/28	Classic FAP	+	Od	Os								
	c.532-1G>A ^b	-	F/7	Classic FAP	-	Od	Os, Hs, Dbi								
3	c.646C>T	p.Arg216*	N/12	ND	ND	IT, Od	-	(36)			APC-N terminális régió				
4	c.761C>G	p.Ser254*	-/-	Attenuated FAP	ND	ST	-	(76)							
5	c.839C>G	p.Ser280*	-/39	ND	ND	-	Os	(77)							
6	c.1240C>T	p.Arg414Cys	-/24	ND	ND	-	Os	(77)							
7	c.1354_1355delGT	p.Val452SerfsX7	-/-	Classic FAP	ND	-	Os	(76)							
8	c.1370C>G	p.Ser457*	F/39	Classic FAP	+	-	Os, Dbi	(78)				APC-N terminális régió			
	c.1370C>G ^c	p.Ser457*	F/32	Classic FAP	-	-	Os, Hs, Dbi								
	c.1370C>G ^c	p.Ser457*	N/34	Classic FAP	+	-	Hs, Dbi								
9	c.1370C>G ^c	p.Ser457*	F/11	Classic FAP	-	ST	Hs	(79)					APC-N terminális régió		
	c.1495C>T	p.Arg499*	N/27	ND	-	-	Os								
	c.2092T>G	p.Leu698*	F/23	Classic FAP	+	Fogászati eltérések	-								
10	c.2092T>G ^d	p.Leu698*	F/48	Classic FAP	+	-	Os	(80)						APC-N terminális régió	
	c.2092T>G ^d	p.Leu698*	F/23	Classic FAP	-	-	Os								
	c.2092T>G ^d	p.Leu698*	N/24	Classic FAP	-	-	Os								
11	c.2092T>G ^d	p.Leu698*	F/21	Classic FAP	-	-	Os	(77)							APC-N terminális régió
	c.2138C>G	p.Ser713*	-/37	ND	ND	-	Os								
	c.2740T>G	p.Cys914Gly	F/-	ND	ND	Mesiodens	-								
13	c.3199_3202delCAAT	p.Ser1068Glyfs*57	-/-	Classic FAP	ND	-	Os	(76)	APC-középső régió						
14	c.3374T>C	p.Val1125Ala	N/-	ND	ND	ST	-	(81)							
	c.3374T>C	p.Val1125Ala	F/-	ND	ND	mesiodens	-	(81)							
15	c.3880_3881delCA	p.Gln1294Glyfs*6	N/30	ND	+	ST, Od, IT	Os	(82)							
16	c.3927_3931delAAAGA	p.Glu1309Aspfs*4	N/18	Gardner sy	-	-	Os	(47)							
17	c.4387_4390del	p.Arg1463fs	-/-	Gardner sy	ND	Fogászati eltérések	Os								
	c.4292_4293delGA ^e	p.Ser1465Trpfs*3	F/15	Gardner sy	ND	ST, Od, IT	-			(83)					
18	c.4292_4293delGA ^e	p.Ser1465Trpfs*3	F/66	Gardner sy	+	IT	-								
	c.4293_4294delAG	p.Ser1465Trpfs*3	N/31	Gardner sy	-	-	Os	(84)							
	c.4293_4294delAG ^f	p.Ser1465Trpfs*3	N/28	Gardner sy	ND	-	Os								
19	c.4293_4294delAG ^f	p.Ser1465Trpfs*3	N/22	Gardner sy	ND	-	Os			(47)	APC-középső régió				
	c.4510_4513del	p.Ser1505fs	-/-	Gardner sy	ND	-	Os, Dbi								
	20	c.4609dup ^g	p.Thr1537Asnfs*7	N/16	Gardner sy	ND	IT	Os							
c.4609dup ^g		p.Thr1537Asnfs*7	F/12	Gardner sy	ND	ST	Os	(85)							
21	c.4611_4612delAG	p.Glu1538Ilefs*5	-/-	Gardner sy	ND	ST	-	(47)							
22	c.4621C>T	p.Gln1541*	F/38	Gardner sy	-	IT, hiányzó fogak	Os	(86)							
23	c.4652_4655delAAGA	p.Lys1551Argfs*13	-/-	Attenuated FAP	ND	ST	-	(76)							
24	c.4654_4655del	p.Glu1552Glyfs*6	-/-	Gardner sy	ND	Fogászati eltérések	Os	(87)							
25	c.4666del	p.Thr1556Leufs*9	F/25	Gardner sy	ND	ST, IT	Os, Dbi	(88)							
26	c.4668_4669insT	p.Ile1557*	-/-	Gardner sy	ND	-	Os	(47)							
27	c.4700C>G	p.Ser1567*	N/11	Gardner sy	ND	IT	-	(43)							
	c.4700C>G	p.Ser1567*	N/16	Gardner sy	ND	IT, Od	Os	(43)							
28	c.5722A>T	p.Asn1908Tyr	F/-	ND	ND	Mesiodens	-	(81)							
29	c.6127A>G	p.Ile2043Val	N/-	ND	ND	Mesiodens	-	(81)							
30	c.8383G>A ^f	p.Ala2795Thr	F/-	ND	ND	Mesiodens	-	(81)	C terminális régió						
	c.8383G>A ^f	p.Ala2795Thr	F/-	ND	ND	Mesiodens	-	(81)							

a-f, családtagokat reprezentálja; ST, számfeletti fog; IT, impaktált fog; Os, osteoma; Od, odontoma; Dbi, (dense bone island) denz csontsziget; Hs, (hazy sclerosis) felhőszerű osteosclerosis; F, férfi; N, nő; ND, nincs említve vagy nincs információ; +, azt jelenti, hogy az adott manifesztáció jelen van; -, azt jelenti, hogy az adott manifesztáció nincs jelen, kivéve a „Nem/életkor” oszlopot, ahol azt jelenti, hogy nem állt rendelkezésre információ, a késsel jelölt betegek a saját betegeink

5.2. Treacher Collins szindróma

5.2.1. A TCS betegekben azonosított mutációk molekuláris jellemzése

A nemzetközi kollaborációban végzett mutációsűrés során két deléciót és egy inszerciót azonosítottunk a *TCOF1* génben (NM_001135243), mely mutációk korai terminációs kodon kialakulását eredményezik. Továbbá egy misszensz mutációt detektáltunk a *POLR1D* génben (NM_001374407). Szegregációs analízisek elvégzését követően a betegpopulációban azonosított négy mutáció közül kettő patogén mutációról kiderült, hogy *de novo* alakultak ki (a P3 és P4 betegben), míg két mutációt (egy patogén és egy VUS) tünetmentes édesanyák örökítették át beteg gyermekükbe (P1, P2 és P5-ös beteg esetében).

A Comprehensive Hearing loss and Deafness Next Generation Sequencing (NGS) génpanel vizsgálat szekvencia elemzése a P1 betegnél egy ismert, öt bázis hosszúságú patogén deléciót, a *TCOF1* c.4369_4373del (p.Lys1457Glufs*12), mutatott ki a *TCOF1* génben. A P2 betegnél, aki a P1 beteg anyai másodunokatestvére volt, és 15 évvel ezelőtt, kétéves korában meghalt, a célzott Sanger-szekvenálás ugyanezt a mutációt azonosította a beteg tárolt DNS-mintájában.

A Facial Dysostosis and Related Disorder NGS panel szekvenálás a P3 betegnél egy új, az irodalomban eddig nem ismert *TCOF1* c.1371_1372insT (p.Lys458*) inszerciót, a P5 betegnél pedig egy új, az irodalomban szintén nem ismert *POLR1D* c.295 G>C (p.Gly99Arg) misszensz variánst azonosított.

A P4 betegnél a WES analízissel egy korábban az irodalomban leírt patogén *TCOF1* c.2103_2106del (p.Ser701Argfs*9) deléciót azonosítottunk.

A *TCOF1* c.1371_1372insT új inszerció ACMG-klasszifikációja patogén, mivel ez a mutáció *de novo* alakult ki, feltételezhetően betegséget okoz, a funkcióvesztő mutáció egy ismert betegséget okozó mechanizmus TCS-ben és ez az azonosított variáns nem található meg a kontroll populációs adatbázisokban (sem a gnomAD genomban, sem a gnomAD exomban) (PVS1, PM2, PS2). A *POLR1D* c.295 G>C (p.Gly99Arg) új misszensz variáns az ACMG-irányelv szerint VUS-nak minősül, mivel ez a variáns nem fordul elő sem a gnomAD genomokban, sem a gnomAD exomokban, és az *in silico* elemzések a mutáció káros hatását jelzik (PM2, PP3).

5.3. Noonan szindróma

5.3.1. Noonan szindrómás család genetikai vizsgálata

A kifejezetten alacsony 14 éves proband DNS mintájából 11 éves korában külföldi kollaboráció keretében (Blueprint Genetics laboratórium) elvégzett 510 gént tartalmazó NGS alapú „Comprehensive Growth Disorders/Skeletal Dysplasias and Disorders” génpanel vizsgálat a *PTPN11* (NM_002834.4) génben egy a szakirodalomban ismert kóroki eltérést, a c.178G>A (p.Gly60Ser) misszensz variánst, azonosított heterozigóta formában. A proband fiatalabb testvérének és édesanyjának mintájában a Sanger-féle szekvenálással végzett célzott mutációvizsgálat szintén kimutatta a mutációt heterozigóta formában. A betegek fenotípusa és genetikai vizsgálati eredményeik alapján megerősítést nyert az NS diagnózisa.

5.3.2. Noonan szindrómás család fogászati vizsgálata

A két lánygyermek fogászati manifesztációit az irodalmi adatokkal együtt a 6. táblázat tartalmazza.

6. táblázat Noonan szindrómás betegeink fogászati jellemzői összevetve az irodalmi adatokkal

A vizsgált betegek száma	P1	P2	n=17	n=4	n=10	n=11	n=42
Hivatkozások			Gürsoy és mtsai (91)	Mallineni és mtsai (92)	Lutz és mtsai (70)	Vavetsi és mtsai (93)	Janas-Naze és mtsai (94)
Fogászati eltérés							
megkésített fogzás/fogváltás	X	X	n/a	-	10%	-	n/a
gótikus szájpád	X	X	76,4%	100%	-	90,9%	n/a
nyitott harapás	-	X	11,7%	-	10%	36,4%	n/a
micrognathia	-	X	-	75%	10%	n/a	n/a
hypoplasias állkapocs	-	X	n/a	50%	n/a	n/a	n/a
malocclusio	-	X	11,7%	100%	30%	63,6%	n/a
fogtorlódás	-	X	-	100%	-	18,2%	n/a
hypodontia	-	-	11,7%	75%	10%	-	n/a
számfeletti fog	-	-	-	-	-	-	26,2%
impaktált fog	-	-	-	100%	n/a	-	23,8%
taurodontizmus	-	-	n/a	100%	-	n/a	n/a
caries	X	X	35,2%	-	-	100%	n/a
zománc hypoplasia	-	-	-	75%	-	n/a	n/a
gingivitis	-	X	35,2%	75%	-	100%	n/a

– = hiányzik; X = jelen van; n/a = nem vizsgálták, vagy nem állnak rendelkezésre adatok

6. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

6.1. Gardner szindróma

6.1.1. Atípusos csontrendszeri és fogászati tüneteket mutató Gardner szindrómás beteg és családjának vizsgálata

A GS egy ritka, daganat predispozíciós szindróma, amelyet pleiotrópia és genetikai heterogenitás jellemez. A GS klinikai diagnózisa gyakran nagy kihívást jelent az extraintestinalis manifesztációk változó expresszivitása miatt. Az osteomák a GS tipikus jellemzői, és jelenlétük szükséges a diagnózis felállításához. Ezek főként az állkapocsban fordulnak elő, de osteomák kialakulhatnak a koponyában, az orrmelléküregekben és a hosszú csöves csontokban is. Index páciensünkénél csak fogászati (impactio és retencio) és atípusos csontdefektusokat észleltünk, a GS-re karakterisztikus osteomát nem, ezért a tünetei nem vetették fel a GS klinikai diagnózisát. Végül a diagnózist egy átfogó genetikai analízis segítségével állítottuk fel, mely a legmodernebb újgenerációs szekvenálási technológia alkalmazásával történt. A WES egy patogén mutációt azonosított az *APC* génben. A diagnózis felállításakor egyik betegünknek sem voltak intestinális tünetei, azonban az édesanya elutasította a colonoscopiás vizsgálatot gyermekeinél és saját magánál is, ezért nincs információnk arról, hogy pácienseinknek vannak-e intestinális polypjai.

A GS-sel asszociált fogászati anomáliák a betegek 30-70%-ánál jelentkeznek. Ezek a következők lehetnek: számfeletti fogak, összetett odontómák, hypodontia, fog impactio vagy retencio, hypercementosis és caries. Mivel a szindróma maxillofaciális tünetei már több évvel az intestinalis polyposis előtt is jelentkezhetnek, ezért nagyon fontos, hogy a fogorvosok tisztában legyenek a szindróma jelentőségével, mint rákot megelőző állapottal. A panoráma röntgenfelvétel hasznos eszköz lehet a GS korai felismerésében. A szindróma elemei, mint például az osteoma, az odontoma, a számfeletti fogak és az impactalt fogak, a rutin röntgenvizsgálatokon azonosíthatóak.

Számos ritka betegségnek vannak fogászati manifesztációi. A Londoni Dismorfológiai Adatbázis szerint 2011-ben 5000 genetikai szindróma közül körülbelül 900 esetben fordultak elő fogászati és oro-maxillofaciális anomáliák a klinikai képben. A fogászati és és szájüregi rendellenességek az extraorális tünetekkel együtt megkönnyíthetik a ritka genetikai szindrómák korai diagnózisát.

6.1.2. Fogászati és csontrendszeri manifesztációk és az *APC* gén mutációi közötti asszociációs vizsgálatok Gardner szindrómában

Extraintestinalis manifesztációk, például különböző fogászati és csontrendszeri rendellenességek, amelyek a FAP-ot kísérik, potenciális szerepet játszhatnak a korai diagnózis klinikai indikátoraként. Egyes fogászati és csontrendszeri anomáliák gyakrabban fordulnak elő a FAP-betegeknél, mint az általános populációban (7. táblázat).

7. táblázat A fogászati és csontrendszeri manifesztációk előfordulási gyakorisága a FAP-ban szenvedő betegeknél és az átlag populációban

Klinikai tünetek	Gyakoriság a FAP betegek körében (%)	Gyakoriság az átlag populációban (%)	Ref
Osteoma	76,1	4,3	(106)
	62	14	(107)
	57,7	2,6	(104)
	46-93	4-16	(34)
	40	6,6	(108)
	60-80	1-2	(85)
Odontoma	26,9	0	(104)
	9,4-83,3	0-4	(34)
Impaktált fog	11,5	3,8	(104)
	4-38	0-4	(34)
Fogászati rendellenesség	53,3	0	(108)

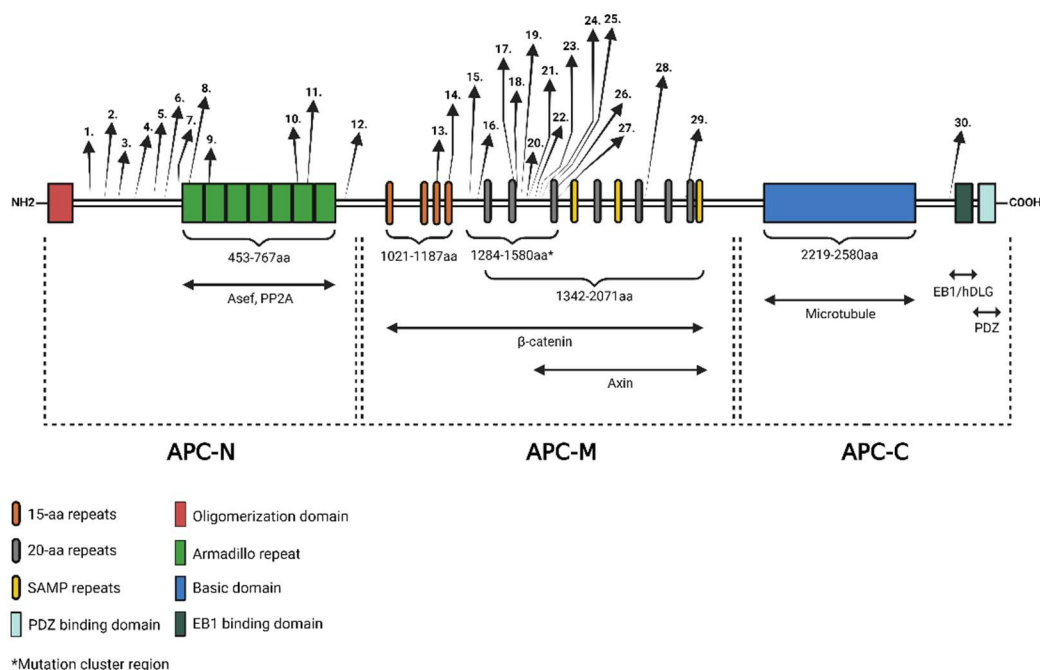
Számos tanulmányban végeztek FAP-os betegek körében genotípus-fenotípus asszociációs vizsgálatokat az *APC* mutációk lokalizációja és az extraintestinalis manifesztációk közötti összefüggés feltárása céljából. Septer és munkatársai tanulmányukban FAP-os gyermek betegeket vizsgáltak. Azt találták, hogy azoknál a betegeknél, akik az 1309-es kodonban vagy az 1309-es kodon előtti régióban elhelyezkedő mutációt hordoztak, nagyobb gyakorisággal figyeltek meg osteomákat (77,8%) és állcsontsclerosist (44,4%), valamint ezen betegek 77%-ában legalább egy fogászati rendellenesség is előfordult. Továbbá megfigyelték, hogy osteomák alakultak ki az állkapocsban az 5' UTR és az 516-os kodon közötti régió genetikai variánsainak 42,9%-ában, a 849 és 1309 kodonok között elhelyezkedő variánsok 66,7%-ában, valamint a 1310 kodon és a 3' UTR régió között elhelyezkedő variánsok 77,8%-ában.

Tanulmányunkban a betegeinknél azonosított mutációt elemeztünk együttesen 29 korábban publikált *APC* mutációval együtt, mely mutációk 47 betegben fordultak elő.

Betegeinknél, akik a c.4700C>G (p.Ser1567*) mutációt hordozták, impaktált fogak, odontómák és osteomák fordultak elő. Ezt a mutációt már korábban leírták, azonban, fogászati-csontrendszeri eltérést nem társítottak hozzá. Az ismert *APC*-mutációval rendelkező betegek fogászati és csontrendszeri anomáliáinak részletes klinikai értékelése azt mutatta, hogy a korábbi eredményekhez hasonlóan a csontrendszeri manifesztációk gyakoribbak voltak, mint a fogászati rendellenességek (46-ból előbbi 34 esetben, míg utóbbi 24 esetben fordult elő).

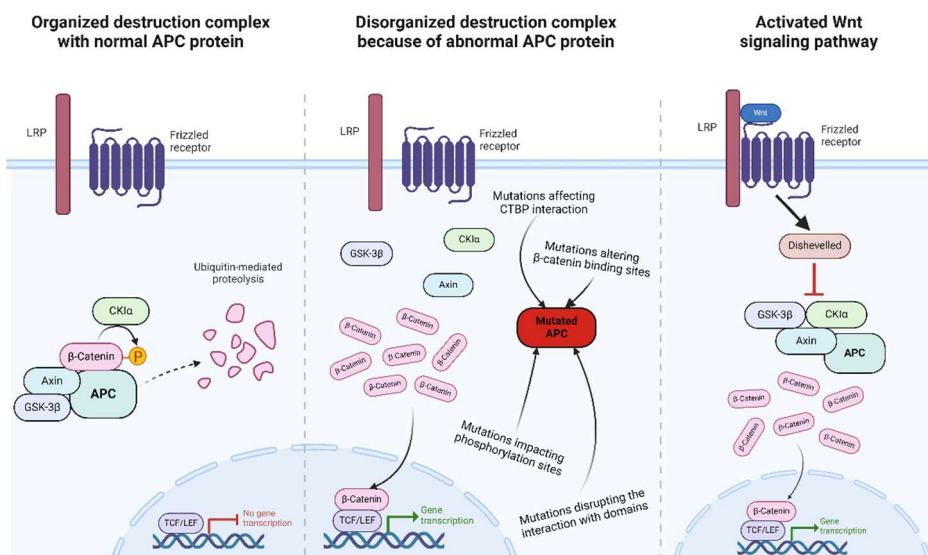
Az osteoma volt a leggyakoribb csontelváltozás, a fogászati rendellenességek közül pedig számfeletti fog fordult elő gyakrabban. Az *APC* mutációk és ezen extraintestinalis manifesztációk genotípus-fenotípus összefüggéseinek vizsgálata azt mutatta, hogy az APC fehérje N-terminális régiójában (1-1000 aminosav) lokalizált mutációk gyakrabban társulnak csak csontos elváltozással, mint a középső régióban (1000-2100 aminosav) lokalizált mutációk (65% a 32%-kal szemben). Továbbá a fogászati manifesztációk gyakrabban társultak a középső régióban lévő mutációkhoz, mint az N-terminális régióban lévő mutációkhoz (68% a 35%-kal szemben). A számfeletti fogak bizonyultak a leggyakoribb fogászati rendellenességnek, és ezek gyakrabban társultak a középső régióban lévő mutációkhoz, mint az N-terminális régióban lévő mutációkhoz.

Az APC egy multifunkcionális fehérje, amely több funkcionális régiót tartalmaz, többek között a következőket: specifikus ismétlődéseket, meghatározott motívumokat, nukleáris lokalizációs és export szignálszekvenciákat (5. ábra).



5. ábra Az APC fehérje szerkezete és az ismert *APC* mutációk fehérjén belüli lokalizációja. Az APC az oligomerizációhoz szükséges régiókat tartalmaz, valamint armadillo ismétlődéseket, β -katenin kötő domént, AXIN-kötő domént, bázikus domént, EB1-kötő domént és HDLG-kötő domént. A három fő régió neve és a fehérje interakciós partnereinek a neve az APC-diagram alatt láthatók. Az APC-N a N-terminális régiót, az APC-M a középső régiót, az APC-C pedig a C-terminális régiót jelképezi. A mutációk helyét nyilak jelzik. A számok megfelelnek a 6. táblázatban található számozásnak. Az ábra a BioRender.com programmal készült (hozzáférés: 2024. március 29.).

A Wnt odontogenezisben és a csontfejlődésben betöltött szerepével már korábban foglalkoztak. Korábbi egérmodelleken végzett kísérletek megállapították, hogy a kiegyensúlyozott Wnt/ β -katenin aktivitás elengedhetetlen a fogak normális fejlődéséhez. A Wnt-út vonal megzavarása vagy károsodott fogképződéshez, vagy számfeletti fogakhoz vezet. Normális esetben a β -katenin foszforilálódik és egy destruktív komplex által lebomlik. Az úgynevezett β -katenin destruktív komplex axinból, β -kateninből és APC-ből áll, és a CK1 α és a GSK-3 β segítségével foszforilálja a β -katenint. Korábbi kutatások megállapították, hogy a sejtek citoplazmájában és sejtmagjában a β -katenin felhalmozódása különböző esetekben fordulhat elő, többek között a β -katenin közvetlen mutációja, a Wnt-jel vagy az APC inaktiválása következtében. Az APC csonkolása feltehetően megzavarja a destruktív komplex interakcióját, és ezáltal a β -katenin degradációját. Az így megemelkedett mennyiségű β -katenin a sejtmagban komplexet képez a TCF/LEF-fel, és aktiválja a cél gén expresszióját (6. ábra).



6. ábra Az APC fehérje mutációi a Wnt jelátviteli útvonal hatásait utánozzák. A normál APC fehérje inaktiválja a β -katenin transzkripciós szerepét foszforiláción keresztül, ami ubiquitinációhoz és degradációhoz vezet (balra), míg a mutált APC fehérje lehetővé teszi a β -katenin sejtmagba jutását (középen), hasonlóan az aktív Wnt jelátviteli útvonal eredményéhez (jobbra). Az ábra a Bio-Render.com „Wnt jelátviteli útvonal aktiválása és gátlása” című kiadványából származik (hozzáférés: 2024. március 29.). Letöltve a <https://app.biorender.com/biorender-templates> oldalról.

Statisztikai elemzésünkkel kimutattuk, hogy azoknál a betegeknél, akik a fehérje középső doménjében elhelyezkedő mutációt hordoznak, gyakrabban fordult elő fogászati rendellenesség. Ezenkívül a számfeletti fogak gyakrabban társultak a középső régióban lévő mutációkhoz. Az ebben a régióban található mutációk többsége frameshift vagy nonszensz mutáció, ami a fehérje transzlációjának megszűnését eredményezi, ami egy nem funkcionális APC fehérjéhez, vagy a transzkript nonsense-mediálta bomlásához vezethet.

6.2. Treacher Collins szindróma

Számos tanulmány felvetette azt, hogy a riboszóma biogenezis gátlása a TCS egyik kiváltó oka. A négy gén, nevezetesen a *TCOF1*, *POLR1C*, *POLR1D* és *POLR1B*, amelyek feltételezhetően részt vesznek a TCS patogenezisében, szoros kapcsolatban állnak a riboszóma biogenezissel.

A TCS kialakulásában döntő szerepet játszik a *TCOF1* gén hibás működése, amely az 5q32-q33.1 kromoszómán található, 27 exont tartalmaz és egy 152kDa fehérjét kódol. Eddig több, mint 200 patogén variánst írtak le a *TCOF1* génben. Ezek többsége 1 és 40 nukleotid közötti méretű deléció, amelyek többnyire korai terminációs kodont eredményeznek és ezáltal csonka Treacle fehérje képződéséhez vagy nonsense-mediálta mRNS-bomláshoz vezetnek.

Betegcsoportunkban az irodalmi adatokkal összhangban kis deléciókat és egy inszerciót azonosítottunk a *TCOF1* génben NGS-alapú módszerek alkalmazásával. Két beteg a leggyakoribb deléciót (c.4369_4373del) hordozta, mely deléciót az elvégzett szegregációs analízis alapján mindkét beteg a tünetmentes édesanyjától örökölte. A P4 betegnél egy ismert deléciót (c.2103_2106del) azonosítottunk a gén 12-es exonjában, amely a fehérje leolvasási keret eltolódását (frameshift) eredményezi, a P3 betegnél pedig egy új, egy nukleotidot érintő inszerciót (c.1371_1372insT) a 9-es exonban, amely azonnali terminációs kodon kialakulásához vezet.

A Treacle-fehérje 3D modellezése kimutatta, hogy az új c.1371_1372insT variáns egy drámaian megváltozott szerkezetű fehérjét kódol. Ez az új variáns azonban azonnali terminációs kodont eredményez. Az átírt mRNS valószínűleg az ún. nonsense-mediálta degradáció útján bomlik le, ami a funkcionális fehérje mennyiségének csökkenéséhez vezet, így végül ez az új variáns funkcióját haploinsufficiencián keresztül fejt ki.

Számos kutatás történt a TCS betegek fenotípus-genotípus összefüggéseinek feltárására, azonban a mai napig nem sikerült összefüggést megállapítani. Emellett nem találtak összefüggést a betegség súlyossága és a patogén mutáció szülői eredete, a sporadikus vagy familiáris esetek között.

A négy *TCOF1*-mutációt hordozó betegünknel megtalálhatóak a TCS nagyon gyakori klinikai jellemzői, mint a maxillaris és mandibularis hypoplasia, az antimongoloid szemrész és három betegünknel kétoldali vezetékes halláscsökkenés is, azonban a többi klinikai tünet tekintetében variabilitást tapasztaltunk. A gyakori klinikai jellemzők közül minden betegnél megfigyelhető volt a külső hallójárat atresiája, továbbá két betegnél microtia, az alsó szemhéj colobomája és beszédzavar, egy betegnél pedig az arc aszimmetriája fordult elő. A ritka klinikai jellemzők közül egy betegnél szápadhasadékot észleltünk.

Pácienseink közül ötből három betegnél állt rendelkezésre fogászati státuszhoz kapcsolódó klinikai adat. Egy betegnél (P4) nem észleltünk fogászati rendellenességet a tejfogazatban. Egy másik beteg (P3) tejfogazatában megkésett fogzást észleltünk. Pici, távolálló fogai vannak, melyek enyhén lepedékesek. Fogmosási nehézségei nincsenek, ami összefügghet azzal, hogy nála nem fordul elő kifejezett craniofaciális rendellenesség. Fogszuvasodás, malocclusio, korlátozott szájnnyitás és szabálytalan fogváltás volt tapasztalható egy hatéves fiú páciensünknel (P1). A fogváltás során először a bal középső metszőfog tört elő a maxillában, majd a bal oldalsó metszőfog szintén a maxillában. A korlátozott szájnnyitás miatt ez a páciens a fogmosás során nehézségekkel küzd. A szápadhasadék előfordulása nem volt gyakori betegcsoportunkban, csak egy betegnél mutatkozott ez a rendellenesség. Érdekes megemlíteni, hogy ezek a betegek 2,5 és 6 év közötti kisgyermekek, ellentétben a Dalben és munkatársai által vizsgált betegekkel.

6.3. Noonan szindróma

A Noonan-szindrómát az alacsony termet, a craniofaciális dysmorphia és a veleszületett szívhibák hármasa jellemzi. Az arcvonások csecsemőkorban és a korai-középső gyermekkorban a legjellemzőbbek, felnőttkorban azonban finomabbá válnak. Felmerült, hogy az NS orofaciális jellegzetességei az arc és a nyak ödémájára vezethetők vissza, ami a 3. és 4. garatív fejlődési zavarainak következménye.

A szakirodalommal összhangban a mi betegeinknél késleltetett fogzás, gótikus szájpád és caries volt megfigyelhető (6. táblázat). Ezen kívül malokklúziót, nyitott harapást, torlódott fogakat, micrognathiát, ínygyulladást és hipoplasztikus állkapcsot is megfigyeltünk az egyik betegünkönél. Hypodontia, számfeletti fogak, impaktált fogak, taurodontizmus és zománchipoplázia azonban nem fordult elő. Meglepő módon a bemutatott családjukban az érintett családtagok különböző orodentális anomáliákat mutattak, bár ugyanazt a *PTPN11* génmutációt hordozták. Az intrafamiális klinikai heterogenitás ismert jelenség számos ritka betegségben, többek között a Noonan-szindrómában is. Tudomásunk szerint azonban ez az első olyan tanulmány, amely a Noonan-szindróma fogászati jellemzőivel kapcsolatos intrafamiális variabilitást mutatja be.

A prevenció stratégia és a rendszeres fogászati ellenőrzés elengedhetetlen az NS-ben szenvedő betegek esetében, ezért fontos, hogy a száj- és maxillofaciális ellátásban részt vevő szakemberek tisztában legyenek az NS sajátosságaival, ugyanakkor a gyermekorvosoknak és a genetikusoknak figyelmet kell fordítaniuk az NS-betegek száj- és maxillofaciális eltéréseinek menedzselésére.

7. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Atípusos csontrendszeri és fogászati tüneteket mutató Gardner szindrómás családban NGS-alapú modern genetikai vizsgálómódszerrel azonosítottuk a betegségért felelős *APC* génmutációt. Megállapítottuk, hogy atípusos tüneteket mutató betegek esetében az NGS egy hatékony eszköz a betegek korai diagnózisának felállításában, valamint a fogászati eltérések korai indikátorai lehetnek a GS-nek.

2. Az *APC* génmutációk lokalizációja és a Gardner szindrómában előforduló fogászati és csontrendszeri manifesztációk asszociációs vizsgálata során megállapítottuk, hogy az *APC* fehérje N-terminális régiójában (1-1000 aminosav) lokalizált mutációk gyakrabban társulnak csak csontos elváltozással, mint a középső régióban (1000-2100 aminosav) lokalizált mutációk. Továbbá a fogászati manifesztációk gyakrabban társultak a középső régióban lévő mutációkhoz, mint az N-terminális régióban lévő mutációkhoz.

3. Treacher Collins szindrómás betegcsoportunkban két új, az irodalomban eddig nem ismert genetikai eltérést azonosítottunk a *TCOF1* és a *POLR1D* génekben. 3D modellezéssel megállapítottuk, hogy az új variánsok [*TCOF1* c.1371_1372insT (p.Lys458*) és *POLR1D*

c.295 G>C (p.Gly99Arg)] drámaian megváltoztatják a fehérjék normál szerkezetét. Betegeink körében az irodalmi adatokkal összhangban inter- és intrafamiliaris fenotípusos variabilitást figyeltünk meg. A gyakori *TCOF1* 4369_4373delAAGAA mutációt hordozó nagycsalád szegregációs vizsgálatával elsőként írtuk le az irodalomban, hogy a kóroki mutáció átadása a tünetmentes családtagok között is előfordul.

4. A Noonan szindrómás család genetikai vizsgálata során egy *PTPN11* gén mutációt azonosítottunk az érintett betegekben. A fogászati kivizsgálás során betegeinknél az irodalmi adatokhoz hasonló eltéréseket észleltünk, azonban elsőként az irodalomban figyeltünk meg intrafamiliaris variabilitást a fogászati tüneteket illetően.

8. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Antal G**, Zsigmond A, Till Á, Orsi E, Szanto I, Büki G, Kereskai L, Herbert Z, Hadzsiev K, Bene J. Case report: Initial atypical skeletal symptoms and dental anomalies as first signs of Gardner syndrome: the importance of genetic analysis in the early diagnosis. *Pathol Oncol Res.* 2024 May 14;30:1611768. doi: 10.3389/pore.2024.1611768. eCollection 2024. IF: 2,3 (2024)
2. Büki G, **Antal G**, Bene J. Rare Germline Variants in the Adenomatous Polyposis Coli Gene Associated with Dental and Osseous Anomalies. *Int J Mol Sci.* 2024 Jul 26;25(15):8189. doi: 10.3390/ijms25158189. IF: 4,9 (2024)
3. **Antal G**, Zsigmond A, Till Á, Szabó A, Maász A, Bene J, Hadzsiev K. Molecular and Clinical Heterogeneity in Hungarian Patients with Treacher Collins Syndrome-Identification of Two Novel Mutations by Next-Generation Sequencing. *Int J Mol Sci.* 2024 Oct 23;25(21):11400. doi: 10.3390/ijms252111400. IF: 4,9 (2024)
4. **Antal G**, Csabai L, Zsigmond A, Szanto I, Hadzsiev K, Bene J. Heterogeneity of orodental features in a family with Noonan syndrome a rare genetic disorder

Publikálás alatt

Egyéb közlemények

Büki G, Zsigmond A, Czakó M, Szalai R, **Antal G**, Farkas V, Fekete G, Nagy D, Széll M, Tihanyi M, Melegh B, Hadzsiev K, Bene J. Genotype-Phenotype Associations in Patients With Type-1, Type-2, and Atypical NF1 Microdeletions. *Front Genet.* 2021 Jun 8;12:673025. IF: 4,772

Összesített impakt faktor: 16,87