

# Monogénes endokrin kórképek

Dr. Patócs Attila, PhD

Egyetemi docens

Endokrinológiai Genetika Laboratórium,

Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika és

SE Laboratóriumi Medicina Intézet

MTA-SE „Lendület” Örökletes Endokrin Daganatok kutatócsoport  
kutatócsoportvezető

# Bármilyen betegség molekuláris diagnosztikája során követendő algoritmus

- *Klinikailag igazolt* monogénes szindróma
- Már genetikai vizsgálattal igazolt családokban a tünetmentes hordozók szűrése
- Sporadikus esetek során genetikai eltérésre utal: fiatalkor, kétoldali manifesztáció (leginkább onkológia, tumorszindrómák!!!)
- Genetikai hajlam vizsgálata: rizikó faktor, gyógyszer érzékenység

## Módszertana:

1. **Genetikai tanácsadás** (Beleegyező Nyilatkozat)

2. Vizsgálatkérés

3. **Molekuláris diagnosztika**

- DNS izolálás perifériás vérből

- PCR reakció a szindrómáért felelő gén kódoló részének amplifikációja

- Bidirekcionális DNS szekvenálás

- Nagy deléción kimutatása: MLPA és Kvantitatív PCR

## Kompetencia

**Klinikai genetikus**

**Molekuláris diagnosztikai szakorvos**

# Lehetőségeink és feladataink a *monogénesen* öröklődő szindrómában szenvedő betegek diagnosztizálása és kezelése során

## Diagnózis felállítása:

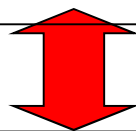
pontos klinikai diagnózis, lehetőség szerint *családfa elemzéssel* kiegészítve (klinikai genetikus). Célja: öröklődésmenet tisztázása

molekuláris biológiai vizsgálatokkal a diagnózis igazolása a génelterés kimutatásával (*molekuláris diagnosztikai* laboratórium feladata). Cél: betegséggel összefüggő gévelterés igazolása. Ezt követően: az egyenes ági rokonok szűrése

## Genetikai vizsgálat következménye:

- **Szűrővizsgálatok** a fenotípusban előforduló eltérések mielőbbi kimutatása illetve **preventív beavatkozások** végzése
- Betegek **hosszútávú nyomonkövetése**
- **Családtervezés**: genetikai tanácsadás

**Csapatmunka:** belgyógyász, endokrinológus, gyermekgyógyász, onkológus....



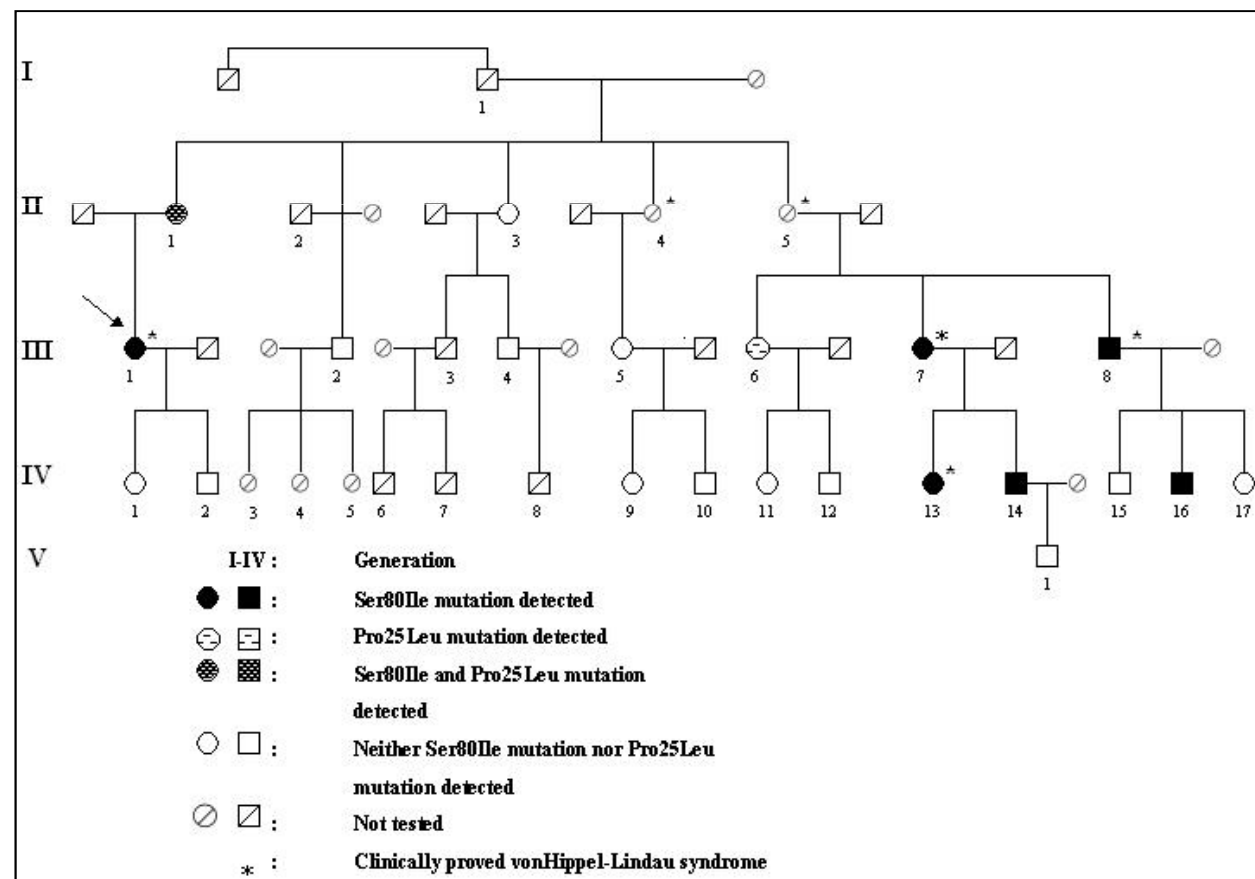
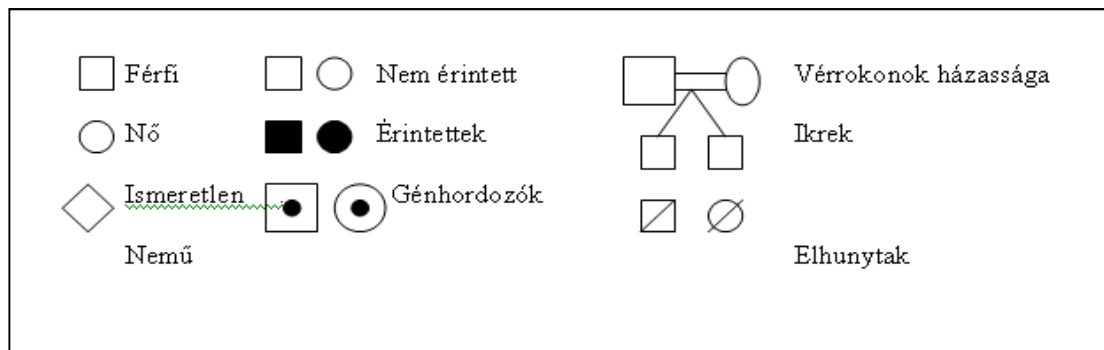
**Komplex öröklődésű betegségek esetében**  
Rizikó becslés, ún. hajlamosító tényezők ismertetése

# Monogénesen öröklődő kórképek genetikai diagnózisa

---

- Öröklődésmenet tisztázása
- Mutáció azonosítás
- Genotípus-fenotípus összefüggések
- Genetikai eredmény befolyásolja a beteg és családjának sorsát

# A családfa szerkesztés során használt egyezményes jelek



# Monogénes betegségek, a patogenetikai ok feltárása

## Genetikai tanácsadás folyamata

### 1. Családfa elemzés:

-öröklődésmenet tisztázása: domináns vagy recesszív, autoszom vagy nemi kromoszómához kötött öröklődés

### 2. A felelős genetikai eltérés vizsgálata hozzáférhető-e?

### 3. Genetikai vizsgálati eredmény birtokában

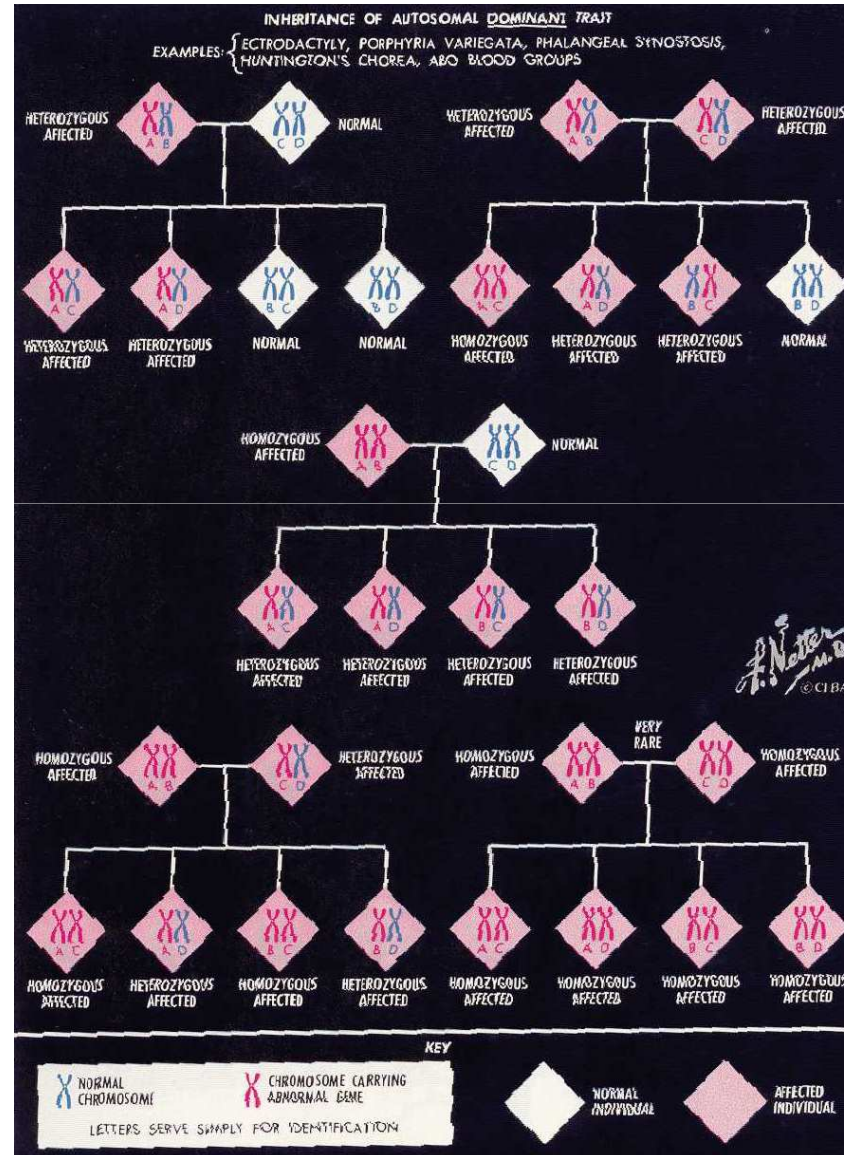
#### - Kapcsoltsági vizsgálatok:

- fenotípus szegregálódik-e a genotípussal?

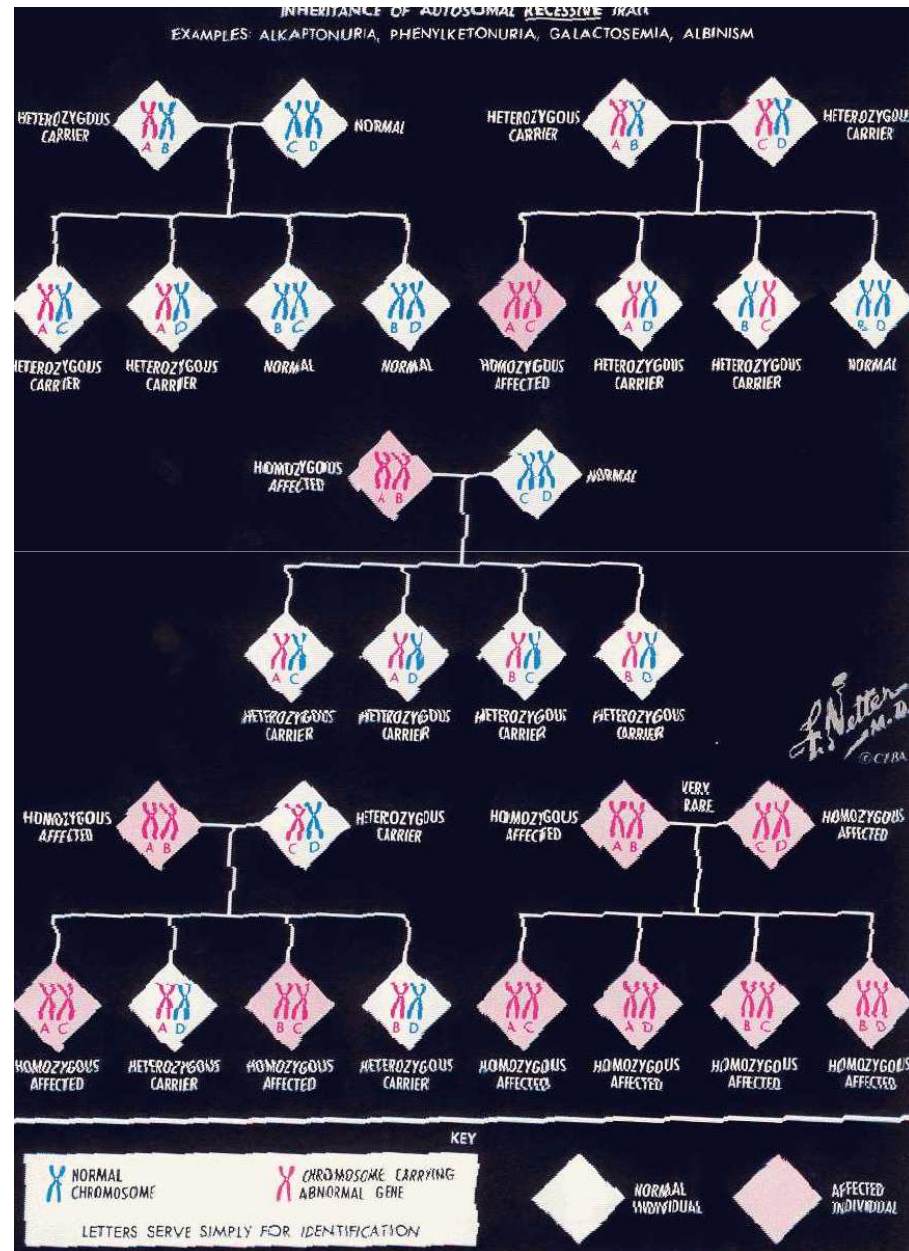
- az azonosított genetikai eltérés nem egy egyszerű polimorfizmus-e? (funkcionális tesztelés)

- Családszűrés szervezése, terápia megválasztása

# Autoszomális domináns öröklődés



# Autoszomális recesszív öröklődés







# **Genetikai/molekuláris diagnosztika – Etikai megfontolások**

# Genetikai vizsgálatok etikai/jogi szabályozása

**2008. évi XXI. törvény**

**a humángenetikai adatok védelméről, a humángenetikai vizsgálatok és kutatások, valamint a biobankok működésének szabályairól**

**Magyar Közlöny, 2009, 193, 47449**

A laboratórium által végzett, és hazai, vagy nemzetközi Külső Minőségellenőrzési Rendszerben elérhető valamennyi beavatkozás esetében, minimum évente 4x, ahol ez a minőségügyi szolgáltató szolgáltatási sajátosságai miatt nem elérhető, minimum évente 2x részvétel és megfelelés.

Minőségirányítási kézikönyv

NAT akkreditáció (legkésőbb 2013. január 1-jétől)

**USA: The Genetic Information Nondiscrimination Act (GINA) May 2008.**

GINA makes it **illegal** for health insurers to deny insurance coverage or charge a higher rate or premium to an **otherwise healthy individual found to have a potential genetic condition or genetic predisposition towards a disease or disorder**. *Érvénybe lépett: 2009 május.*

GINA also makes it **illegal** for employers to use an **employee's genetic information when making hiring, firing, placement, or promotion decisions**.

*Érvénybe lépett: 2009 november*

# **Molekuláris diagnosztika a gyakorlatban**

# Mit? Vizsgálandó genetikai eltérések

**Mutáció:** a DNS bizonyos részeinek spontán elváltozásai, melyek megváltoztatják a kódolt utasításokat, hibás fehérjét vagy hibás funkciót eredményeznek

*Epidemiológiai definíció:*

**mutáció**, melynek gyakorisága az átlag populációban kisebb mint 1 %-1 ‰,  
**polimorfizmus** (SNP): gyakorisága > 6 %,  
genetikai **variáns**: gyakorisága 1-6 %

A mutációk **osztályozása**:

terjedelem alapján pontmutációkról (egy bázis vagy bázispár érintett)  
kromoszóma-mutációkról (egész gén, vagy kromoszómaszakasz érintett)

minőségi tulajdonságok alapján

szerkezeti mutációk: helyettesítő - szubsztitúciós,  
deléciós, inszerciós mutációk  
átrendező (génen belül, kromoszómán belül-inverziók, kromoszómák között-transzlokációk)

eredet szerint: spontán, genetikai kontroll (un. mutátorok)  
indukált (kémiai ágensek, ionizációs sugárzások, nem ionizációs-uv sugárzás) mutációkról.

# Autoszomális dominánsan öröklődő kórképek

## A LEGTÖBB TUMORSZINDRÓMA

### Tumorszindrómák:

emlőrák

*BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN*

vastagbélrák

*APC (FAP), MLH1, MSH2, MSH6 (HNPC), STK11 (Peutz-Jeggers), PTEN (Cowden kór)*

### ***endokrin tumorszindrómák:***

MEN1

*MENIN*

MEN2

*RET*

von Hippel-Lindau

*VHL*

Öröklődő Phaeo/PGL

*SDHB/SDHC/SDHD/TMEM127/MAX*

Cowden betegség

*PTEN*

Carney komplex

*PRKAR1A*

# Monogénes betegségek, a patogenetikai ok feltárása endokrin rendszer daganatos betegségeiben

Endokrin szervek daganatai között az örökletes esetek relatív gyakoriak

Daganat	Betegség-okozó gének	Összes %-a
Phaeochrom.	RET, VHL, SDHD, SDHC, SDHB, NF1, MEN1	30%
Gastrinoma	MEN1	25%
Hypophysis tu.	MEN1, PRKAR1A, GNAS	15%
Somatostatinoma	NF1	10%
Insulinoma	MEN1, VHL	10%
Szigetsejt NF	MEN1, VHL	10%
Előbél carcinoid	MEN1	10%
Medull. pajzsm tu.	RET	10%
Mellékpajzsm tu	MEN1, RE, CaSR, HRPT2	5%
Mvesekéreg tu.	MEN1, PRKAR1A, GNAS, TP53	2%
De pl. Emlő rák	BRCA1, BRCA2, TP53	6-8 %

# Autoszomális domináns módon öröklődő és endokrin rendszer érintettségével járó tumorszindrómák

## A „klasszikusak”

- MEN1
- MEN2
- VHL
- NF1

## A „még kevésbé ismertek”

- Hereditær phaeochromocytoma/  
paraganglioma
- Tuberus sclerosis
- Carney komplex
- Cowden kór
- Li-Fraumeni szindróma

# MEN1 szindrómában előforduló endokrin daganatok és ezek becsült penetranciája a 40. életkorig

<b>Mellékpajzsmirigy adenoma</b>	<b>90 %</b>
<b>Enteropancreaticus daganat</b>	
Gastrinoma	40%
Insulinoma	10%
Nem hormontermelő daganat	20%
Egyéb hormontermelő daganat (VIPoma, somatostatinoma)	2%
<b>Előbél carcinoid</b>	
Thymus carcinoid	2%
Bronchus carcinoid	2%
Gyomor enterochromaffin-szerű sejtekből kiinduló carcinoid	10 %
<b>Hypophysis daganat</b>	
Prolaktinoma	20 %
GH-t és prolaktint-termelő adenoma	5 %
GH-t termelő adenoma	5 %
ACTH-t termelő adenoma	2 %
TSH-t termelő adenoma	ritka
Nem hormontermelő adenoma	5 %
<b>Mellékvesekéreg</b>	
Primer aldosteronizmus	ritka
Cushing szindróma	ritka
Nem hormontermelő daganat	25 %
Pheochromocytoma	ritka
<b>Nem endokrin daganatok</b>	
<b>Lipoma</b>	30 %
<b>Angiofibroma (arcon)</b>	85 %
<b>Kollagenoma</b>	70 %
<b>Ependymoma</b>	1 %



# MEN1-hez társuló daganatok különböznek a sporadikus daganatoktól

**Pathomechanizmus:** "two-hit" modell (Knudson)

MEN 1: egyik allél: örökletes mutáció

másik allél: szerzett deléció

Sporadikus: egyik allél: szerzett mutáció

másik allél: szerzett deléció

**Biológiai viselkedés:** **Mellékpajzsmirigy**

MEN1 és sporadikus esetben hasonló, de a recidiva MEN1 daganat esetében gyakoribb

**Gastrinoma**

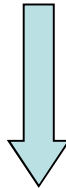
MEN1 és sporadikus esetben hasonló

**Hypophysis tumor**

MEN1 tumor agresszívabb, mint a sporadikus esetben

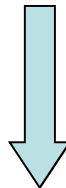
# A MEN1 GENETIKAI JELLEMZŐI

- A betegség *autoszomális dominánsan* öröklődik



*az utódok 50%-ban öröklik a betegséget!*

- a MEN1 **tumorszuppresszor gén** a 11q13 kromoszómarégióban található; összesen 10 exonból, melyből 9 *exon* a kódoló régió;
- *több, mint 400 a MEN1 gént érintő mutációt írtak le a nemzetközi irodalomban; de nincs mutációs “hot spot”!*



**Géneltérések a gén egész területén jelentkezhetnek**

# **A *MEN1* gén mutációanalízisének indikációi**

## **Index eset (proband)**

### **Klinikailag *MEN1* szindróma**

(sporadikus vagy familiáris formában: 2 major lézió, vagy 3 major és/vagy minor eltérés)

### **Klinikailag gyanús, vagy atípusos *MEN 1* szindróma**

(2 vagy több *MEN1*-tumor; többgócú mellékpajzsmirigy daganat 30 évnél fiatalabb egyénben; eredményes műtét után recidiváló hyperparathyreosis; gastrinoma vagy többgócú pancreas szigetsejt tumor bármely életkorban)

## **Familiaris izolált hyperparathyreosis**

## **Ismert *MEN1* mutációval rendelkező egyén vérrokon családtagjai:**

Minden tünetmentes vérrokonnál

Bármely rokonnál, aki a *MEN1* szindróma bármely jelét mutatja\_(megerősítésként)

## **Klinikailag *MEN 1* szindrómás betegben, *MEN1* mutáció hiányában:**

Mint fent, csak a *MEN1* mutációanalízis nem hozzáférhető; abban az esetben is ez az ajánlás, ha a genetikai szűrés negatív, de egyéb genetikai vizsgálatok (haplotípus-analízis, kapcsoltsági vizsgálatok) és klinikai kémiai tesztek végezhetőek

## **MEN1 szindrómában előforduló daganatok szűrésére javasolt szűrővizsgálat program**

<b>Daganat</b>	<b>Szűrés kezdete (életév)</b>	<b>Biokémiai vizsgálat (évente)</b>	<b>Képalkotó vizsgálat (3 évente)</b>
<b>Mellékpajzsmirigy adenoma</b>	8	Szérum kalcium, PTH	-
<b>Gastrinoma</b>	20	Szérum gastrin, gyomorsav szekréció*, secretin-stimulált gastrin**	-
<b>Insulinoma</b>	5	Vércukor, insulin (éhezéskor)	-
<b>Egyéb enteropancreaticus daganat</b>	20	Chromogranin A, glukagon	CT, MRI, 111In-pentetreotid szcintigráfia
<b>Hypophysis adenoma</b>	5	Prolactin, IGF-I	MRI
<b>Előbél carcinoid</b>		Chromogranin A	CT, 111In-szcintigráfia

# A MEN2 szindróma alcsoportjai

## Alcsoport

## Klinikai manifesztációk

---

**MEN2A**

Medulláris pajzsmirigy carcinoma  
Phaeochromocytoma  
Hyperparathyreosis  
(mellékpajzsmirigy adenoma)

**FMTC**

Medulláris pajzsmirigy carcinoma

**FMTC vagy MEN2A + Hirschsprung**

**FMTC vagy MEN2A + Hirschsprung betegség**

**FMTC + cutan lichen amyloidosis**

FMTC + viszkető bőrleváltozások a háton

**MEN2B**

Medulláris pajzsmirigy carcinoma  
Phaeochromocytoma  
Nyálkakártya neuromák  
Intestinális ganglioneuromatosis  
Marfanoid alkat

---

# MEN2 szindróma definíció

Alcsoport	Klinikai manifesztációk
<b>MEN2A</b>	Medulláris pajzsmirigy carcinomán kívül még egy fő manifesztáció az érintett egyénben vagy vérrokon családtagokban
<b>MEN2A variáns</b>	familiáris phaeochromocytoma familiaris hyperparathyreosis
<b>FMTC</b>	legalább 10 génhordozó vagy MTC családtag, akik kórtörténete pontosan ismert és akik között több egyén legyen 50 évesnél idősebb
<b>MEN2B</b>	Medulláris pajzsmirigy carcinoma és fenotípus jelek

# *RET* mutáció-analízis indikációja

- FMTC, MEN2A, MEN2A variáns, MEN2B családtag
- Sporadikus pheochromocytoma
- Hirschsprung betegség gyermekkorban (exon 10)
- Colon ganglioneuromatosisban szenvedő gyermekek (exon 16, 918 kodon)
- Cutan lichen amyloidosis (?)
- Sporadikus MTC
  - Látszólag sporadikus esetek 1-7%-ban igazolható RET csirasejtes mutáció (gyakoribb, ha fiatalabb életkor, multifocalis)

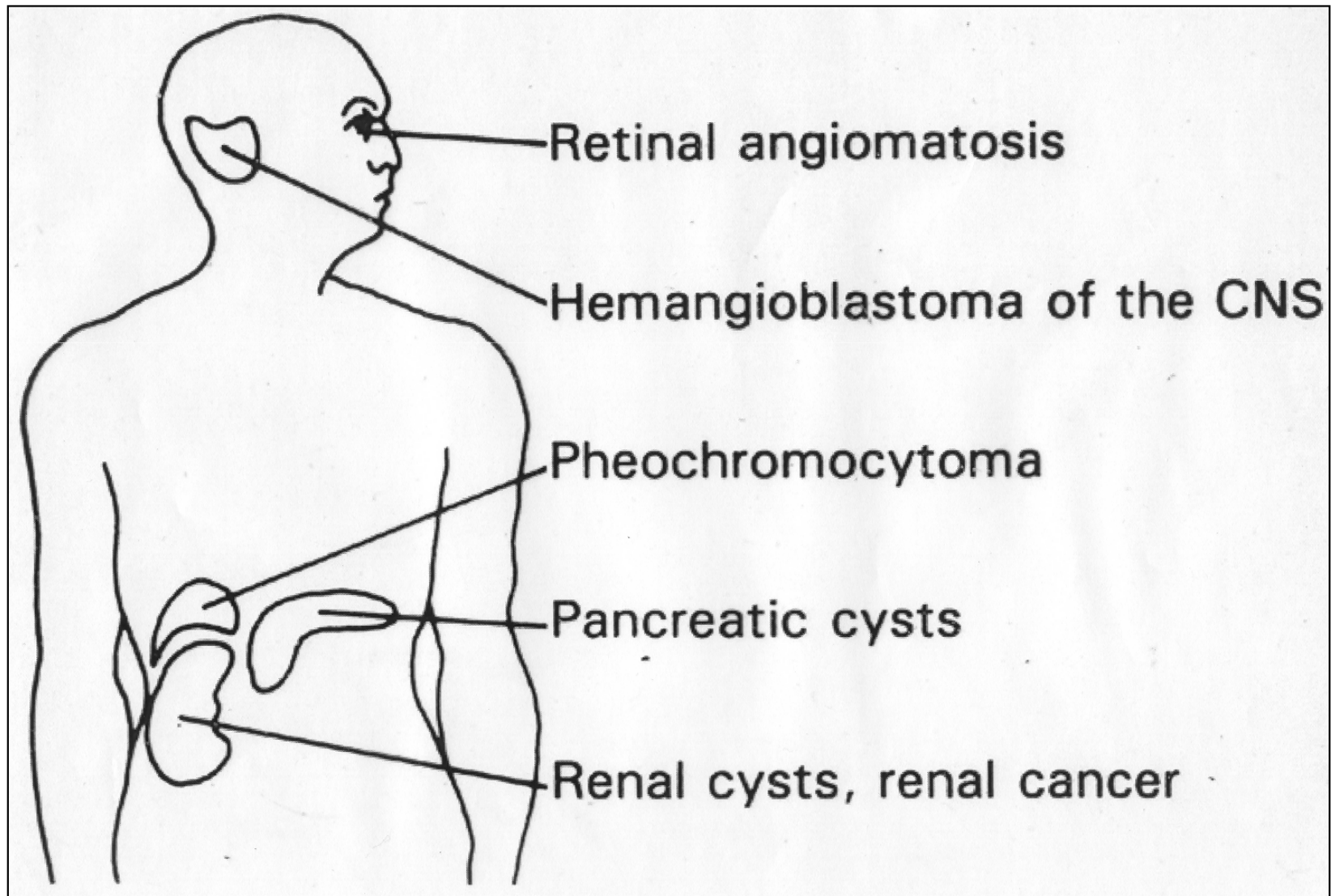
# Genotípus-fenotípus összefüggések MEN2 szindrómában 2.

## RET mutációk hatása a medulláris pajzsmirigy carcinoma agresszív természetére

- **3-as szint (legagresszívabb):**
  - MEN2B beteg vagy 883-as, 918-as, 922-es codon mutáció (preventív thyreoidectomia 6 hónapos korban)
- **2-es szint (közepesen agresszív):**
  - 611-es, 618-as, 620-as vagy 634-es codon mutáció (preventív thyreoidectomia 5 éves korban),
  - de újabb eredmények alapján a 10-es exon mutáció benignusabbnak tűnik, mint korábban gondolták
- **1-es szint (kevésbé agresszív):**
  - 609-es, 768-as, 790-es, 791-es, 804-es és 891-es codon mutáció (preventív thyreoidectomia valószínűleg későbbi életkorban, vagy pozitív vá váló pentagastrin-stimulált szérum calcitonin eredmény esetén)



# A VHL szindróma klinikai manifesztációja



# von Hippel-Lindau szindróma

## **Génhiba:**

**VHL gén (3p25-26) mutáció  
vagy deléció vagy génátrendeződés**

## **Társuló daganatok:**

**retina angiómák, cerebelláris és spinalis  
haemangioblastomák, veserák, pancreas-, vese-,  
epididys- és endolymphaticus cysták és tumorok,  
polycythaemia**

## **Osztályozás:**

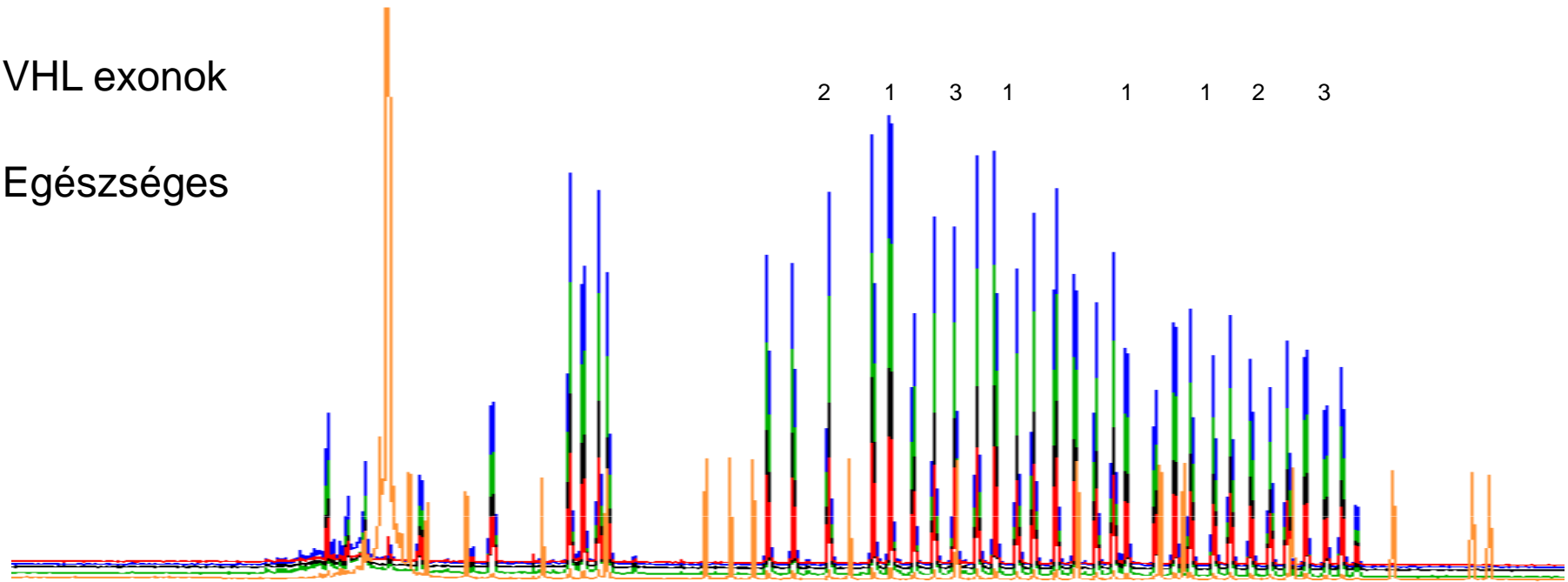
- 1.típus: nincs pheochromocytoma**
- 2.típus: pheochromocytoma kockázat**
  - 2A: vese carcinoma kis kockázat**
  - 2B: vese carcinoma nagy kockázat**
  - 2C: csak pheochromocytoma**

# VHL gént érintő nagy deléciók kimutatása multiplex-ligációs próba amplifikációval (MLPA)

VHL exonok

Egészséges

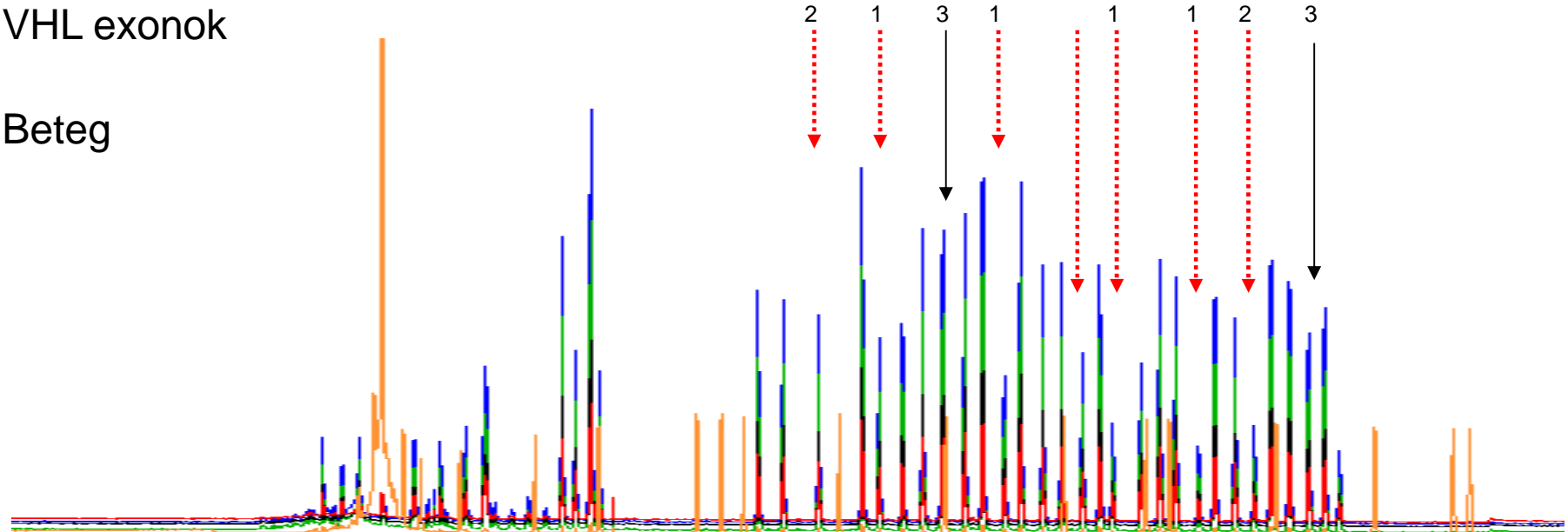
2 1 3 1 1 1 2 3



VHL exonok

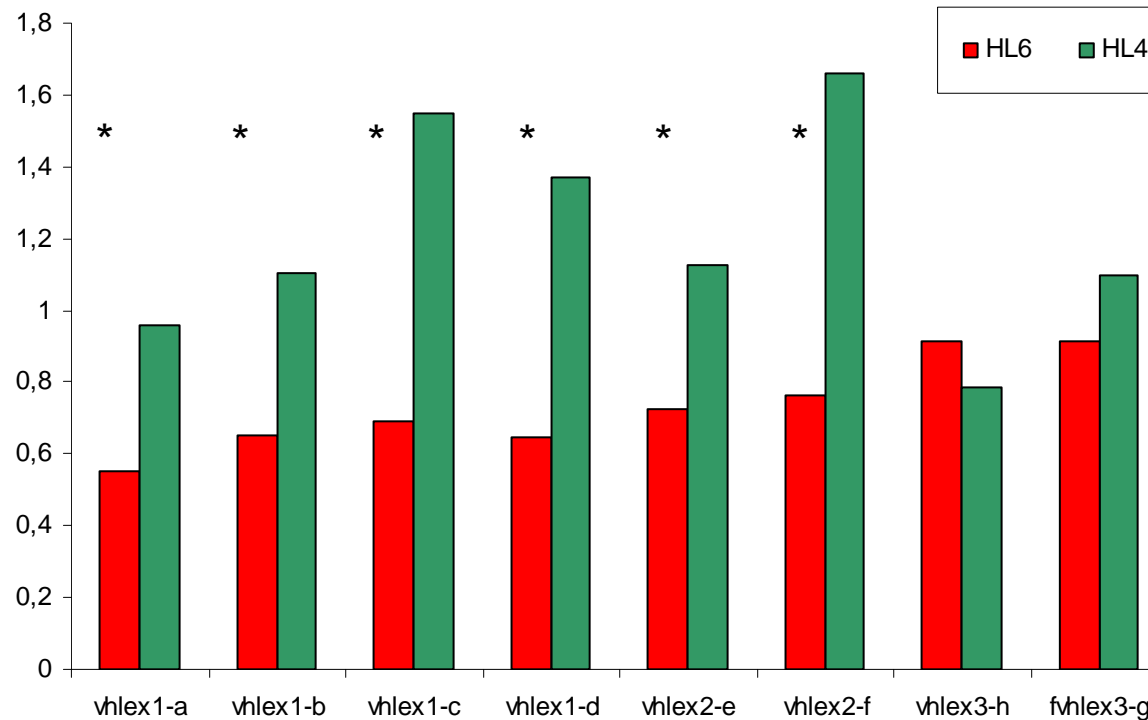
Beteg

2 1 3 1 1 1 2 3



## VHL gént érintő nagy deléciók kimutatása multiplex-ligációs próba amplifikációval (MLPA) 2.

A betegben a VHL gén 1-es és 2-es exonjainak deléciója igazolható



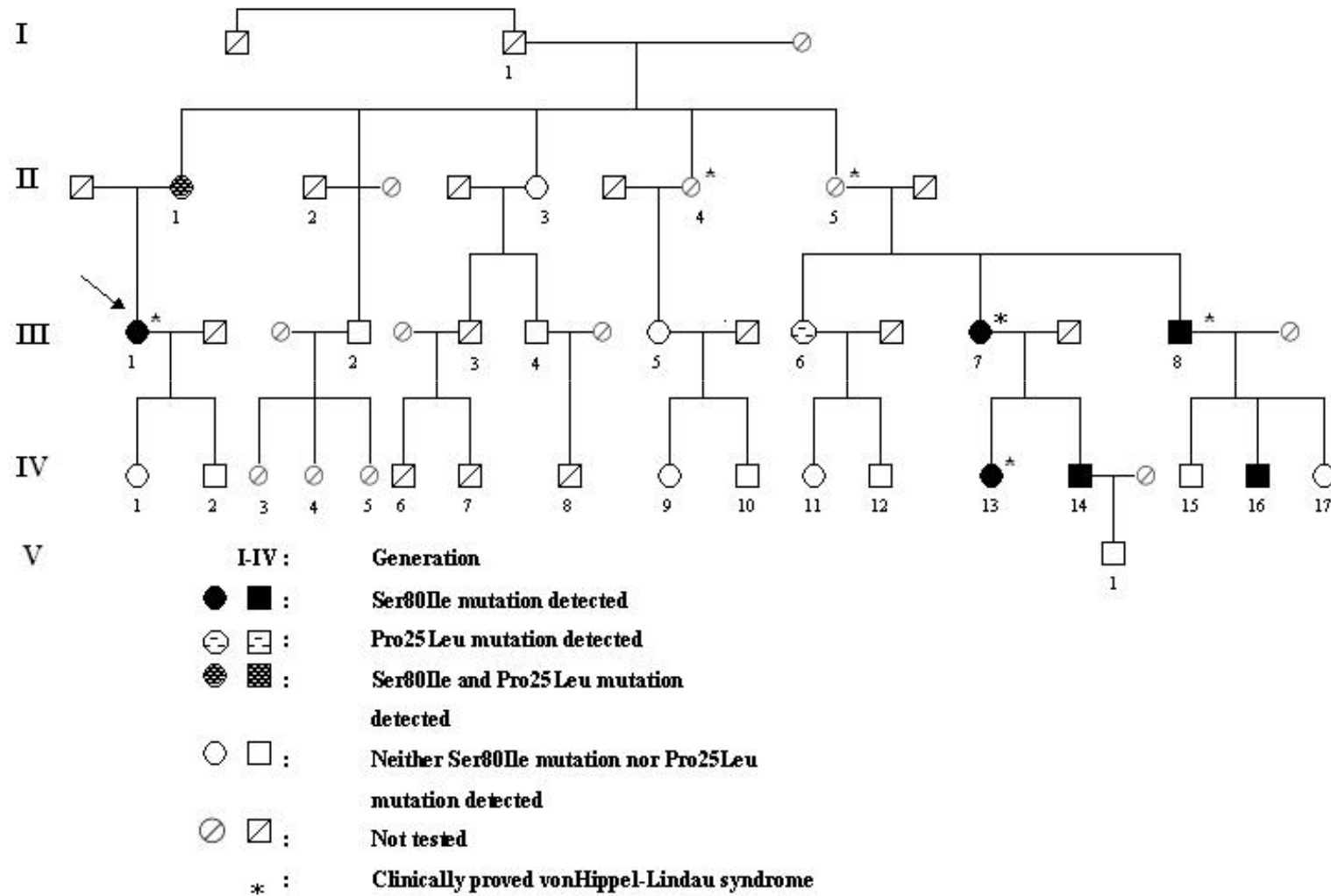
# von Hippel-Lindau szindróma molekuláris diagnosztikája

---

## Genetikai vizsgálat eredménye lehet:

- negatív, a VHL gén területén patogén eltérés nem igazolódott
- pozitív, ismert patogén mutáció igazolódott (HMGA, [www.umd.org](http://www.umd.org), NCBI)
- funkcióját nem ismert génvariáns
  - új mutáció: patogenitás bizonyítása szükséges
  - ártalmatlan variáns: fenti eshetőségek nem teljesülése esetén

# A legnagyobb magyarországi VHL szindrómában szenvedő család

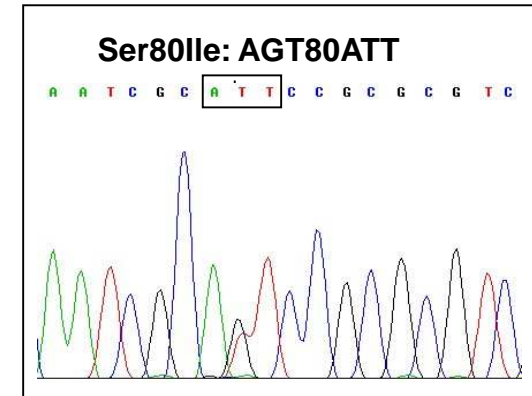
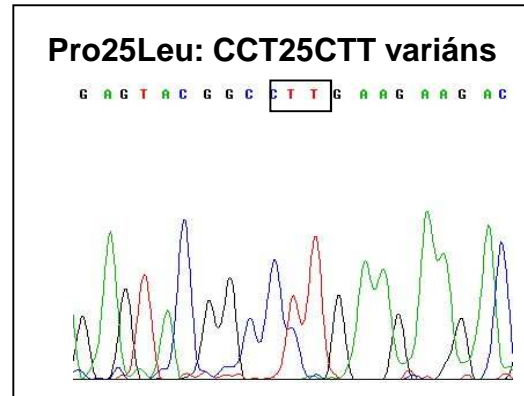


# VHL gént érintő, aminosavcserével járó mutáció

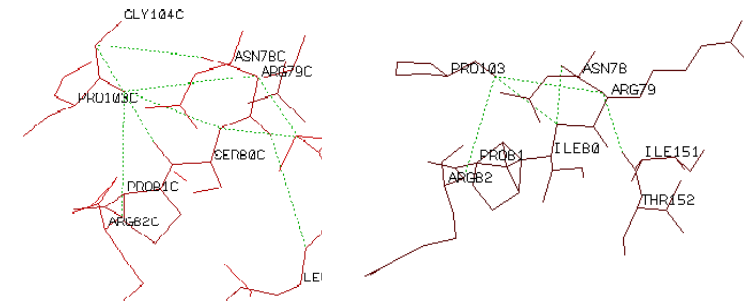
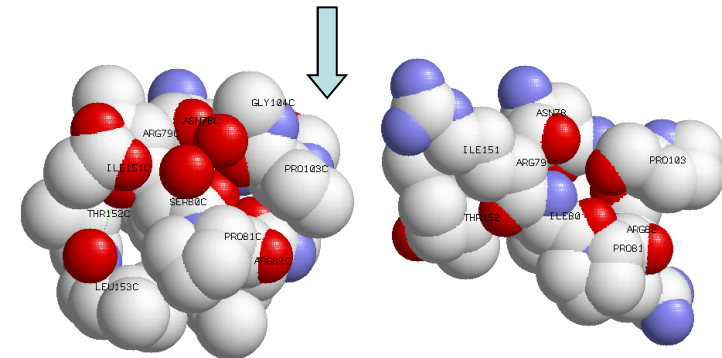
## Patogén mutáció vagy ártalmatlan variáns?

Patogén ha:

- szegregálódik a betegséggel
- hiányzik az átlagpopulációból
- funkcióvesztést okoz



	1	25	54	
Mus musculus	MPRKAASPEEAA-----GEPGP-----EEMEAGRPR			
Rattus norvegicus	MPRKAASPEEAA-----RMPGS-----EELEAGRPR			
Canis familiaris	MPRKAGSV EAEAGAEVGAEEVGP EESGG EESGAEESGPEESDPEEPGAAAE MEAGQPR			
Homo sapiens	MPRRAENWDEAEVGAEEAGVEEYGP EEDGG EESGAEESGPEESGPEELGAEEMEAGRPR			
		80	120	
Mus musculus	PVLRVNSREPSQVIFCNRSFRVVLPLWLNFDGEPQYPILPPGTGRR IHSYRGHLWLFR			
Rattus norvegicus	PVLRVNSREPSQVIFCNRSFRVVLPLWLNFDGEPQYPILPPGTGRR IHSYRGHLWLFR			
Canis familiaris	PVLRVNSREPSQVIFCNRSFRVVLPLWLNFDGEPQYPILPPGTGRR IHSYRGHLWLFR			
Homo sapiens	PVLRVNSREPSQVIFCNRSFRVVLPLWLNFDGEPQYPILPPGTGRR IHSYRGHLWLFR			
	121	150		
Mus musculus	DAGTHDGLLVNQTELFVPSLNV DGQPIFANITL P VYTLKERCLQVVRSLVKPENYRRLDI			
Rattus norvegicus	DAGTHDGLLVNQTELFVPSLNV DGQPIFANITL P VYTLKERCLQVVRSLVKPENYRRLDI			
Canis familiaris	DAGTYDGLLVNQTELFVPSLNV DGQPIFANITL P VYTLKERCLQVVRSLVKPENYRRLDI			
Homo sapiens	DAGTHDGLLVNQTELFVPSLNV DGQPIFANITL P VYTLKERCLQVVRSLVKPENYRRLDI			
		213		
Mus musculus	VRSLYEDLEDYPSVRKDIQRLSQEHLESQHLEEEPE---			
Rattus norvegicus	VRSLYEDLEDHPNVRKDIQRLTQEHLENQALGEEPEgvh			
Canis familiaris	VRSLYEDLEDHPNVRKDLERLAQEHIENQRMEgetedf-			
Homo sapiens	VRSLYEDLEDHPNVQKDLERLTQERIAHQRMGDE---			



# VHL gén eltérések Magyarország-i beteganyagban 2000-2010 között

## Klasszikus, klinikailag VHL diagnózis

- 12 családból 11 esetben (**92 %**) patogén *VHL* génelterés (28/65 hordozó)

- 3 nagy deléció és 1 kis (két bázist érintő) deléció
- 1 splice mutáció
- 2 Stop kodont eredményező mutáció
- 4 aminosavcserét okozó mutáció

} 7/11 (63 %)  
fehérje  
rövidülést  
okozó mutáció

## Sporadikus phaechromocytoma diagnózis

- 76 vizsgált betegben
  - 4 esetben *VHL* mutációk, mind aminosavcserét eredményező
  - 4 esetben *RET* mutációk
  - 3 esetben *SDHx* mutációk

**Összesen 15 %**



# Von Hippel-Lindau szindróma esetén javasolt szűrőprogram

## Vizsgálat

Ophthalmoscopia  
Fluoreszcens angiographia

Fizikális vizsgálat

Vizelet/vér catecholamin

Hasi ultrahang  
Hasi CT  
Hasi MRI (MIBG)

Kisagyi gadoliniumos MRI

Hallásvizsgálat

## Javasolt életkor

újszülöttkortól, évente  
csak indokolt esetben

2 éves kortól, évente

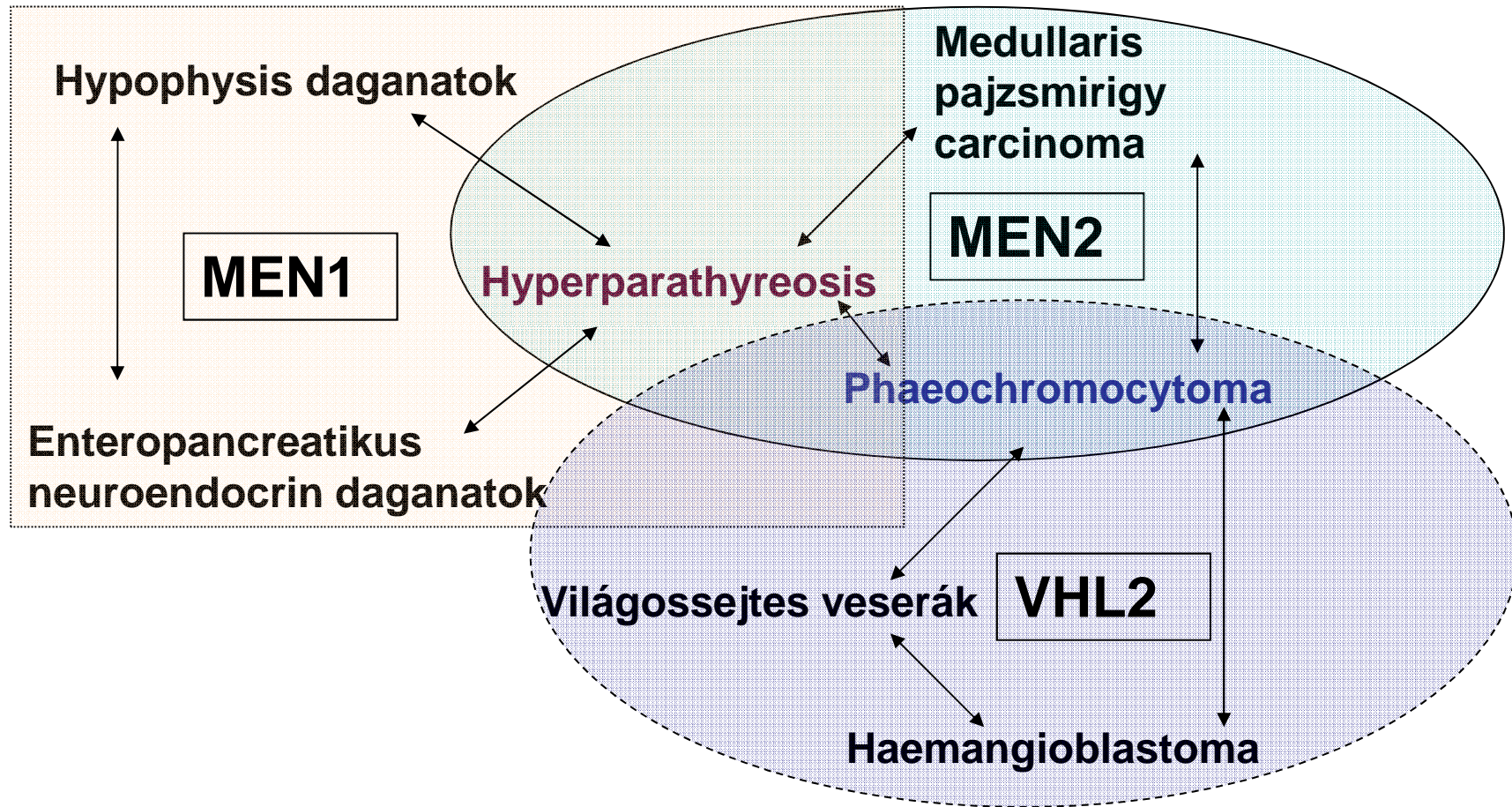
2 éves kortól, évente

11 éves kortól, évente  
20 éves kortól, 1-2 évente  
csak indokolt esetben

11 éves kortól, két évente

tinnitus és vertigo esetén

# Átfedések a három leggyakoribb öröklődő endokrin tumorszindrómák között



# Egyéb örökletes endokrin tumorszindrómák, „a kevésbé ismertek”

Mellékvese daganatokkal:

Phaeochromocytomával

**Familiáris paraganglioma (PGL) /phaeochromocytoma**

Kéreg daganatokkal

**Li-Fraumeni szindróma**

**Beckwith-Wiedemann szindróma**

**Carney complex**

**McCune-Albright szindróma**

Pajzsmirigy daganatokkal

**Cowden betegség**

Mellékpajzsmirigy daganatokkal

**Familiáris hyperparathyreosis – állkapocstumor**

# Phaeochromocytomával járó örökletes tumor szindrómák

<b>Tumor szindróma</b>	<b>Gén</b>	<b>felfedezés éve</b>
• Neurofibromatosis 1	NF1	(1990)
• vonHippel-Lindau	VHL	(1993)
• MEN2	Ret	(1994)
• PGL1	SDHD	(2000)
• PGL2	SDHAF2	(2010)
• PGL3	SDHC	(2001)
• PGL4	SDHB	(2000)
<hr/>		
<b>Egyéb</b>	<b>Gén</b>	<b>felfedezés éve</b>
• Pheo, neuroblastoma, tüdőrák	KIF1Bbeta	(2008)
• Paraganglioma, erythrocytosis	PHD2	(2008)
• Pheo, paragangliom	TMEM127	(2010)
• Pheo, paraganglioma	SDHA	(2011)
• Phe, paraganglioma	MAX	(2011)

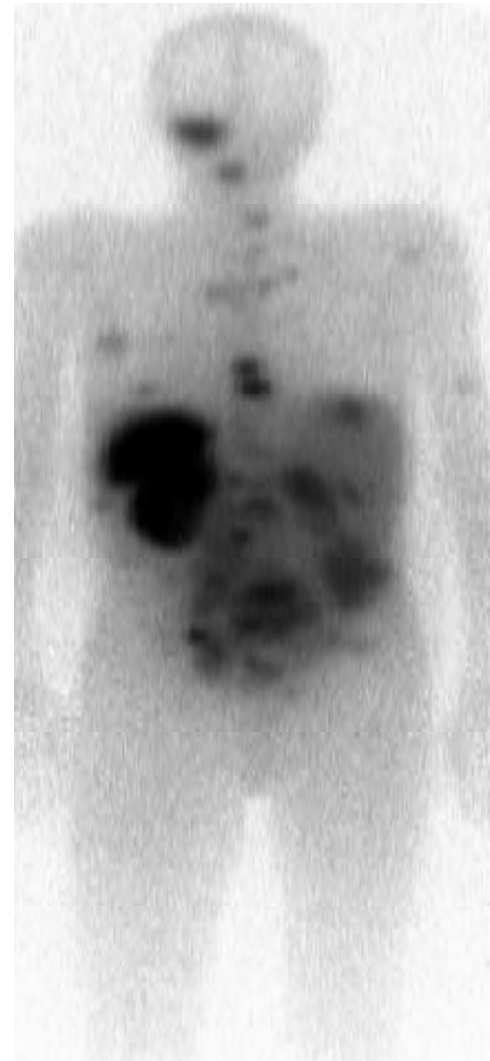
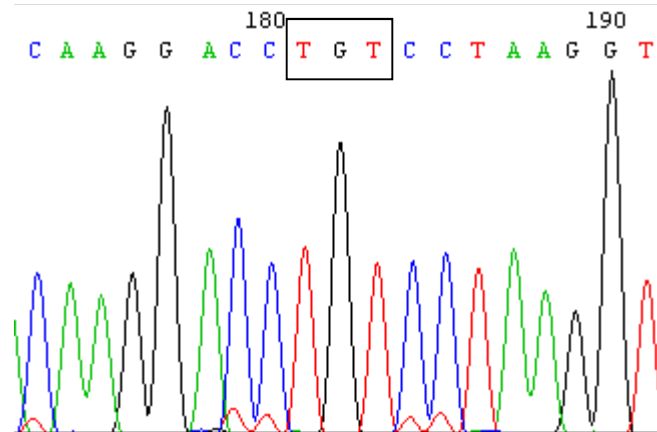
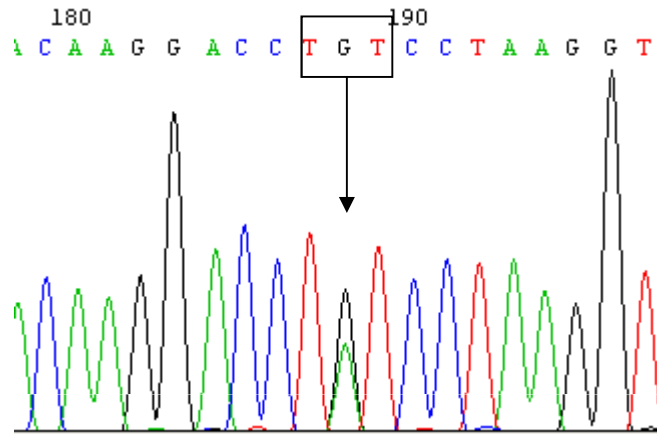
# Familialis paraganglioma szindrómák

Betegség	Genetikai ok	Fenotípus eltérések
<b><u>Familialis paraganglioma szindrómák (PGL)</u></b>		
<b>PGL1</b>	11-es kromoszóma (11q23) mutációk (succinate dehydrogenase subunit D ( <i>SDHD</i> ))	fej és nyak paragangliomák phaeochromocytomák
<b>PGL2</b>	11-es kromoszóma (11q13)	paragangliomák
<b>PGL3</b>	1-es kromoszóma (1q21-23) mutációk dehydrogenase subunit C ( <i>SDHC</i> )	paragangliomák
<b>PGL4</b>	1-es kromoszóma (1p36) mutációk succinate dehydrogenase subunit B ( <i>SDHB</i> )	fej és nyak paragangliomák phaeochromocytomák



## Malignus paragangliómát okozó *SDHB* mutáció

TGT253TAT  
(Cys253Tyr)



Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika  
1088 Budapest Szentkirályi u. 46.  
Endokrinológiai Genetika  
Osztályvezető: Rácz Károly Prof.  
Tel.:

**L E L E T**

KBA.....: 00001706202  
Beteg neve.....  
Születési dátum...: 1976.02.08 Telj. AZ: 7042233  
Anyja neve.....  
Lakcím.....  
Vizsgálatkérő.....  
Rendelés ideje.....

**Vizsgálatok**

Kód	Megnevezés	Menny.	Pont
28920	Polimeráz láncreakció (PCR) egy mintában prim	12	21360
2893A	Bidirekcionális DNS szekvenálás, humán mutáci	12	261408
28946	Agarose-gel elektroforesis	2	1766
29950	DNS kivonása biológiai mintából	1	3925
Összesen			288459

**Eredmény:**

A beteg véréből DNS izolálást követően az öröklődő phaeochromocytóma/paraganglióma szindrómáért felelős SDHB és SDHD gének exonjait PCR-el történő felszorzása után bidirekcionális szekvenálással elemeztük A vizsgálat során **az SDHB génben a TGT253TAT (Cys253Tyr) mutációt azonosítottuk.**

**Vélemény:** Az azonosított eltérés ismert, betegség-okozó SDHB génmutáció. A betegben recidiváló paragangliómák irányába szűrővizsgálatok végzése javasoltak. A kórkép autoszomális domináns módon öröklődik, az egyenes ági rokonok genetikai szűrővizsgálata indokolt.

A vizsgálatokat validálta: Dr. Patócs Attila  
Tudományos munkatárs  
Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika  
Endokrinológiai Genetika Laboratórium  
Molekuláris genetikai diagnosztikai szakorvos  
Tel. 2660926/5577  
e-mail: patatt@bel2.sote.hu



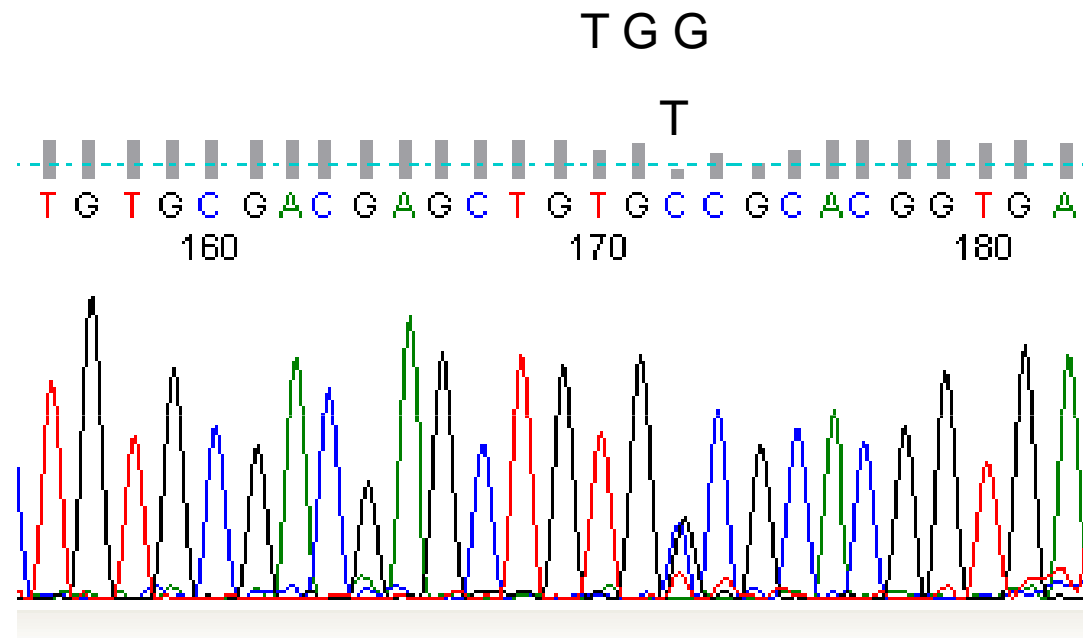
Postázva a beküldő orvosnak.

Budapest 2010. szeptember 23.





# Eredmény



***RET*** exon 11, codon 634

TGC634TGG (Cys-Trp)

L E L E T

KBA.....: 00000342305

Beteg neve.....: [REDACTED]  
Születési dátum...: 1981.06.15 Teli. AZ: 10452824  
Anyja neve.....: [REDACTED]  
Lakcím.....: [REDACTED]  
Vizsgálatkérő.....: [REDACTED]  
Beküldő orvos.....: [REDACTED]  
Kezelő orvos.....: [REDACTED]  
Vizsgálat időpontja: [REDACTED]

Mintavételi adatok:

Tip.	Dátum	Idő	Mennyiség	Megj	Anat	Raktár-osztály	kapcsolatok
Hozz	Kont	Mv	id				
SE	2012.11.27	12:30	0.01	PIROSKUP		1	00:00

Vizsgálatok

Kód	Megnevezés	Menny.	Pont
23693	Kalcitonin meghatározása	1	1360
Összesen			1360

Eredmény

	Érték	Egység	Abn	Referencia tart.	
calcitonin	29	pg/mL	H	0-19	F

# ***RET* mutációk típusa prediktív értékű a medulláris pajzsmirigy carcinoma agresszív természetére**

- **3-as szint:**
  - MEN 2B beteg vagy 883-as, 918-as, 922-es codon mutáció (preventív thyreoidectomia 6 hónapos korban)
- **2-es szint:**
  - 611-es, 618-as, 620-as vagy 634-es codon mutáció (preventív thyreoidectomia 5 éves korban)
- **1-es szint**
  - 609-es, 768-as, 790-es, 791-es, 804-es és 891-es codon mutáció (preventív thyreoidectomia valószínűleg későbbi életkorban, vagy pozitív vá váló pentagastrin-stimulált szérum calcitonin eredmény esetén)

---

**Cytológiai vizsgálat:**

Naplószám:18025/20316 Érkezett:121212 Indítás: Válasz:121213

**Klinikai adatok**

Anamnesisében 1 hete eltávolított phaeochromocytoma szerepel. Emelkedett Calcitonin szint miatt pajzsmirigy UH vizsgálatot végeztek, mindkét oldali pajzsmirigy lebenyben elmosott határú, echoszegény képletet irtak le. Mindkét oldalról 2-2 UH vezérelt vékonytű biopsia történt.

Dr. Igaz Péter

**Makroszkópos- és mikroszkópos leírás**

Mindkét oldalról származó aspirátum keneteiben HE festés után szabályos folliculushámsejtekkel vegyülve hyperchromabb

e-MedSolution

Juhász János - Telj. AZ.: 10533599

Oldal 1

Nyomtatva: pat20 2013.03.08 11:24

---

magvú, atypusos sejtes elemek figyelhetőek meg, melyek cytoplasmája széles granularis, eosinophil. A magok egyenetlen magszerkezetűek, nucleolus nem jellemzi őket, de több chromocentrum van jelen.

Immuncytokémiai vizsgálattal mindkét oldali aspirátum kenetein nagy számú calcytonin pozitív atypusos sejt azonosítható./PM

**Diagnózis:**

T-SNOMED:Pajzsmirigy 9600

1.)BNO:NEOPLASMA MALIGNUM GLANDULAE THYREOIDEAE

C73.H

M-SNOMED:Carcinoma medullare 8510.3

**Diagnózis/vélemény:**

A vizsgálat alapján kétoldali medullaris carcinoma jelenéte igazolható.

Dr. Járny Balázs



# Rosszindulatú endokrin betegség laboratóriumi diagnosztikája, hormonvizsgálatok és molekuláris biológiai vizsgálatok jelentősége

## Medulláris pajzsmirigy carcinoma

Hormon laboratórium: Szérum calcitonin  
Szérum CEA

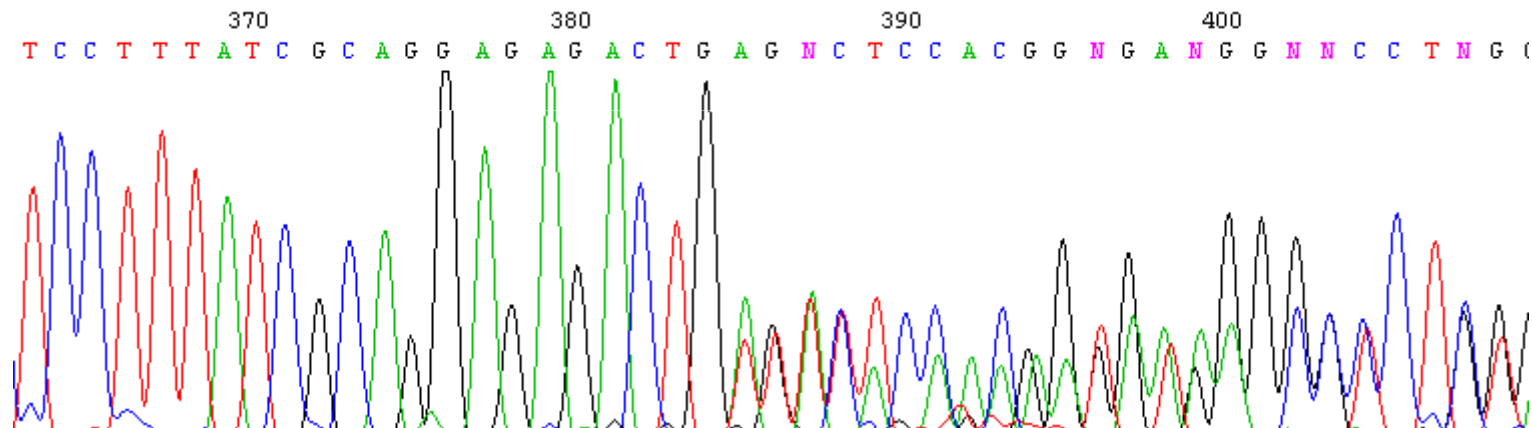
Molekuláris biológiai laboratórium: perifériás vér *Ret* mutáció-analízis

# Carney komplex, ismert patogén mutáció egy fiatal magyar PPNAD-s betegben

c.491\_492delTG

C TG **TG** AT T CAACAAGgta a

C TG AT TC ACCAAGgta a





# McCune-Albright szindróma

**Génhiba:**

**Szomatikus mutációk a postzygota stádiumban  
(GNAS1 gén /G<sub>s</sub>α/ aktiváló mutációi)**

**Társuló tumorok és fenotípus eltérések:**

**Cafe au lait foltok**

**Fibrosus dysplasia (csontok)**

**Endokrin zavarok**

**pubertas precox**

**acromegalia**

**Cushing szindróma**

**pajzsmirigy toxicus adenoma)**

**Mellékvesekéreg tumor/hyperplasia:**

**Primer nodularis adrenocorticalis hyperplasia**

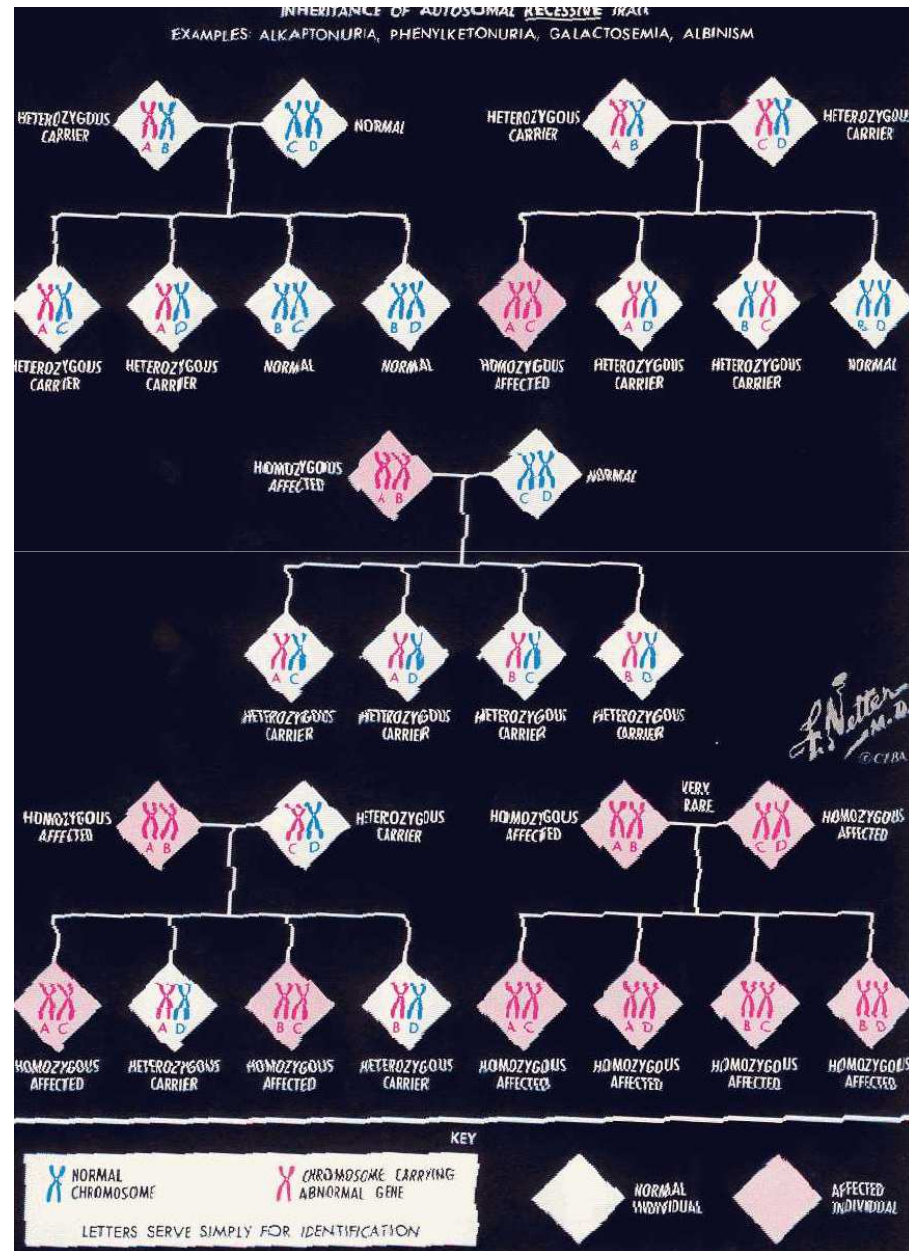
**Újszülöttkori primer nodularis mellékvesekéreg betegség**

**Családszűrés?????**

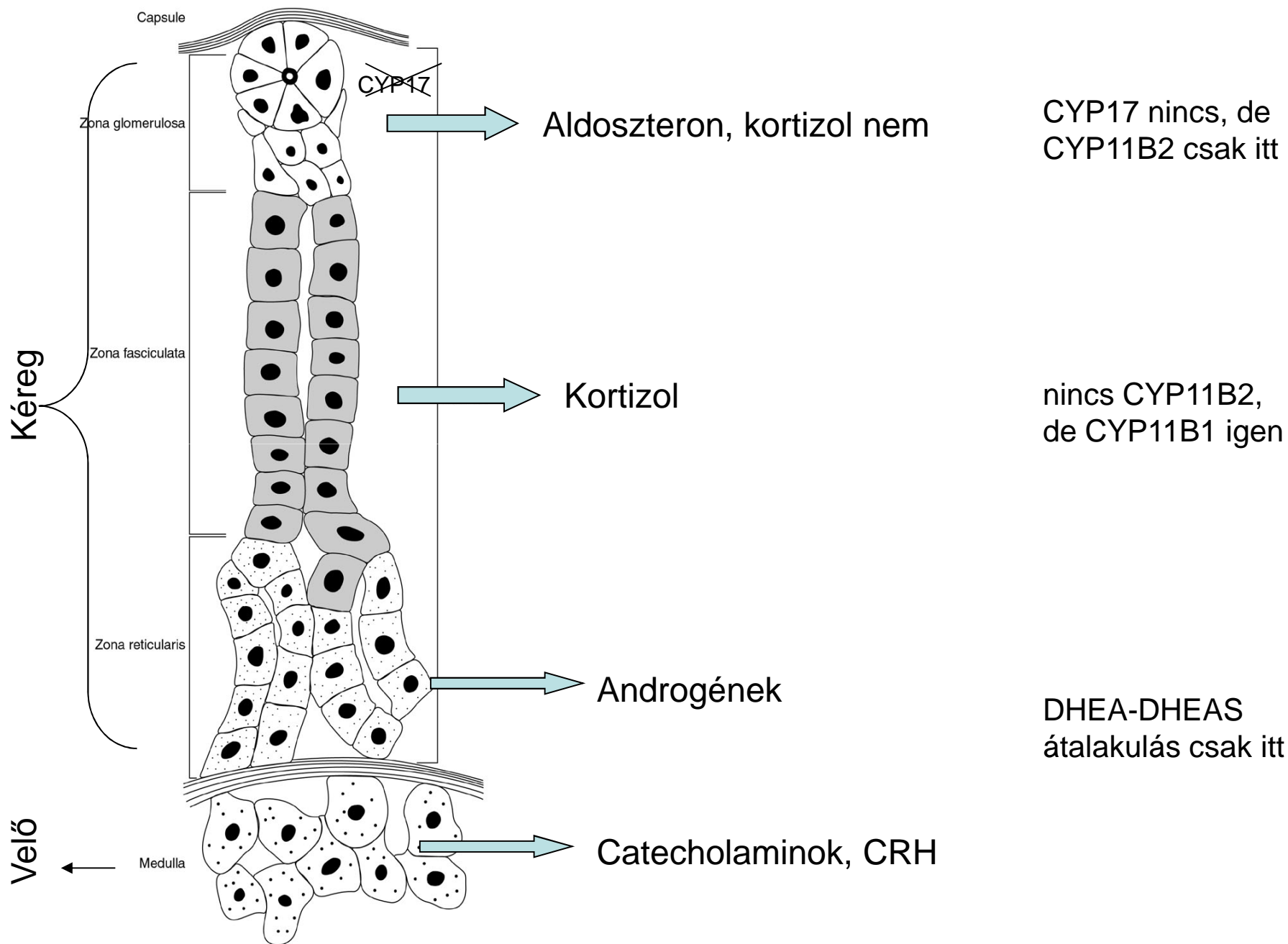
## Autoszomális recesszív öröklődésmenet jellemzői

1. a **betegség homozigóta formában manifesztálódik**
2. a **beteg szülei tünetmentes génhordozók** de enzimdefektusok esetében laboratóriumi módszerekkel csökkent enzimaktivitás náluk is kimutatható
3. **heterozigóta szülők esetén az utódok 25 %-a lesz beteg, 25 %-uk egészséges, míg 50 %-uk heterozigóta génhordozó** lesz.
4. a betegség mindkét nemben azonos valószínűséggel fordul elő de vannak X-hez kötött recesszíven öröklődő betegségek is pl:.....

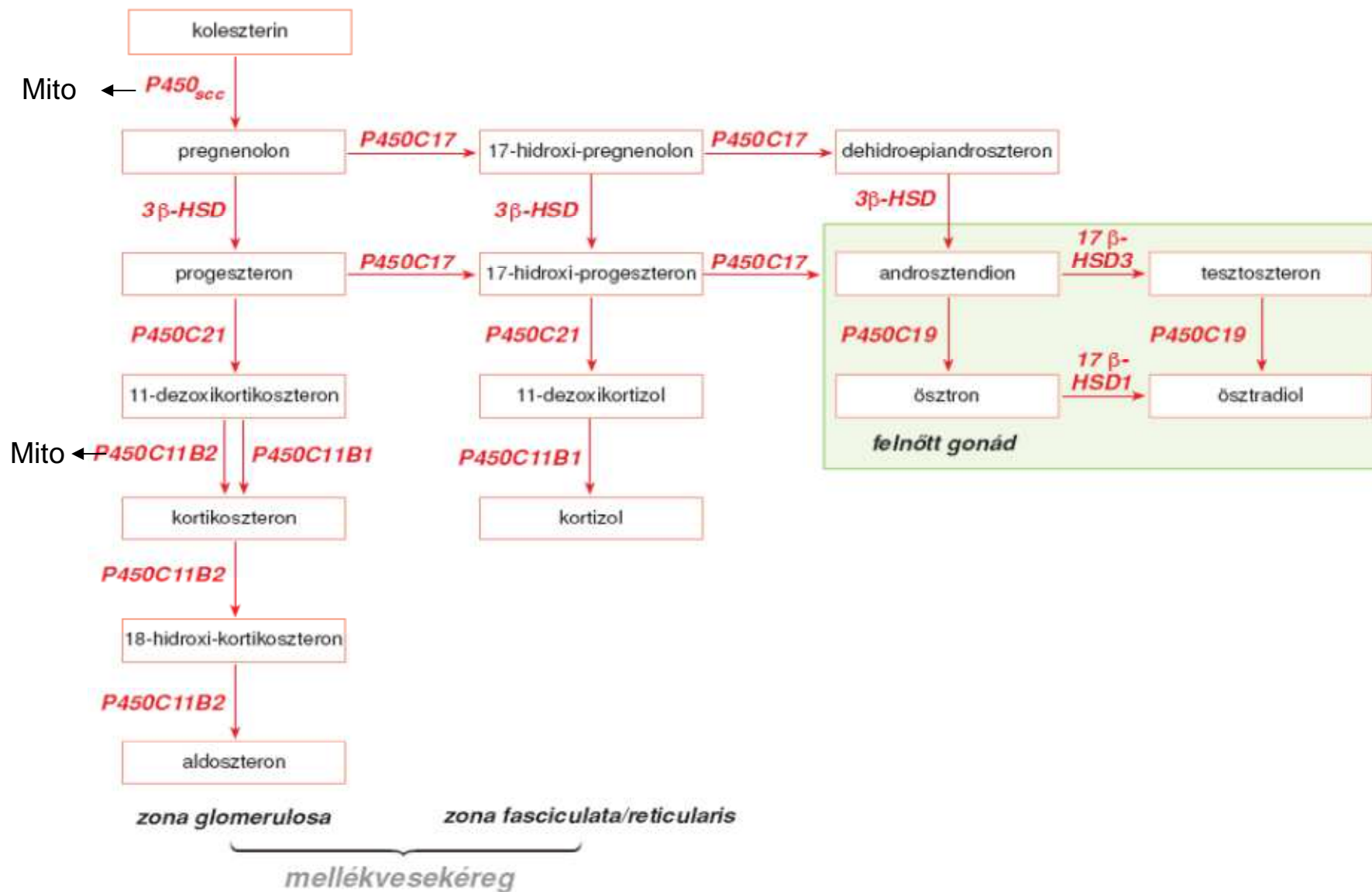
# Autoszomális recesszív öröklődés



# Mellékvesekéreg szerkezete



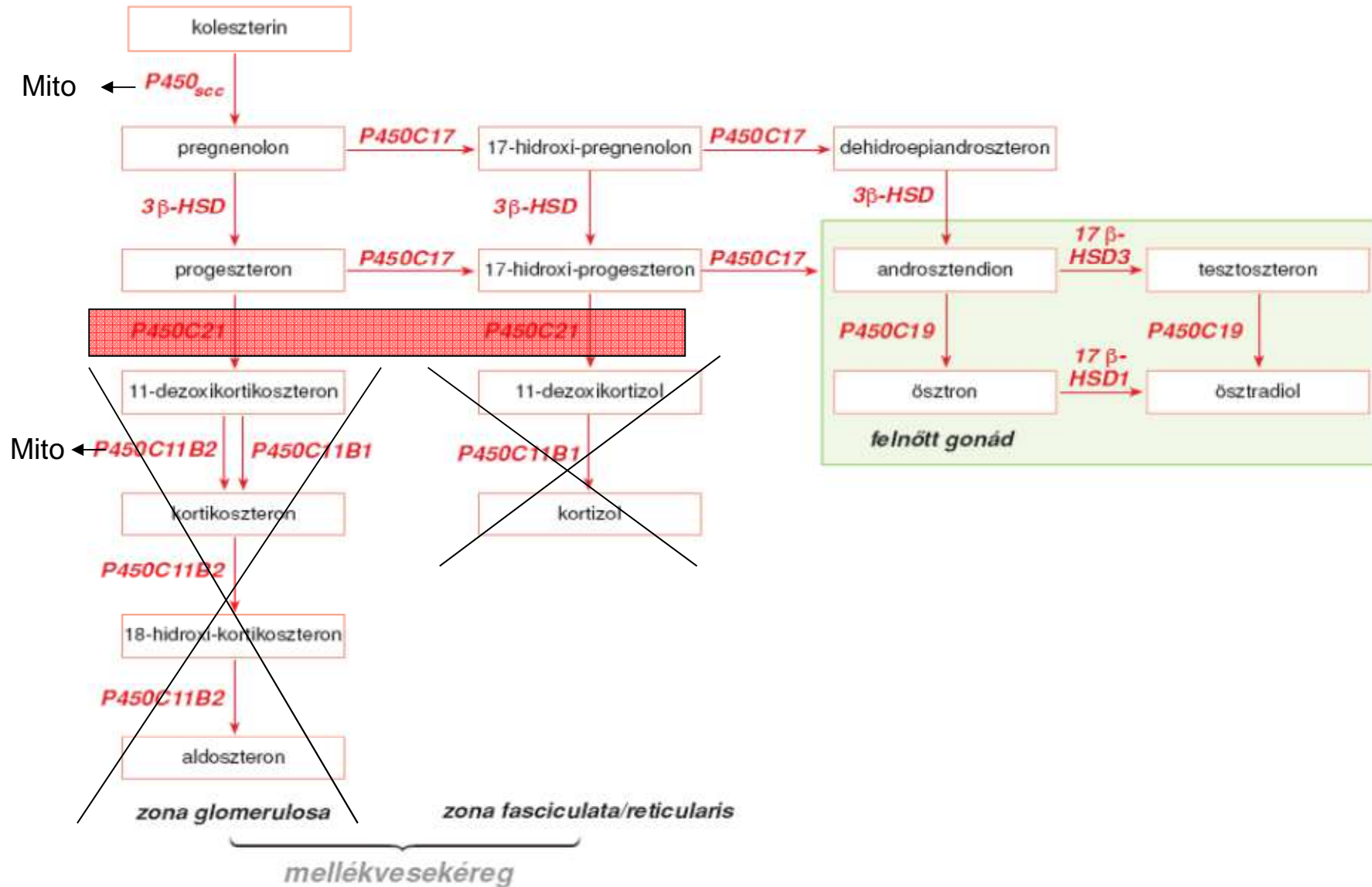
## Szteroid bioszintézis a mellékvesekéregben



## A congenitalis adrenalis hyperplasia háttérében álló géndefektusok

Gén	CYP21	CYP17	CYP11B1	StAR	CYP11B2
<b>Incidencia</b>	1:14.000	ritka	1:100000	ritka	ritka
<b>Laboratóriumi jellegzetességek</b>					
<b>Kálium</b>	↑	↑	↓	↑	↑
<b>Vérnyomás/Nátrium</b>	↓	↓	↑	↓	↓
<b>Glukokort.</b>	↓	-	↓	↓	normális
<b>Mineralokort.</b>	↓	↑	↓	↓	↓
<b>Androgének</b>	↑	↓	↑	↓	normális
<b>Ambiguos genitáliák</b>	nőkben	férfiakban nőkben a pubertás hiányzik	nőkben	férfiakban nőkben a pubertás hiányzik	-
<b>Akut mellékvesekéreg elégtelenség</b>	igen	nem	ritka	igen	sóvesztés

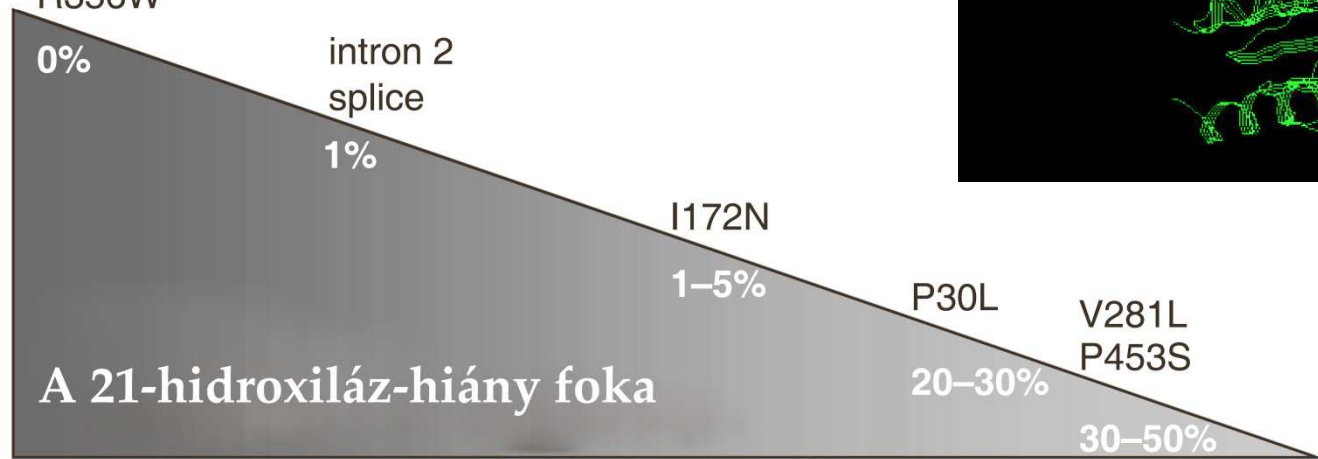
## A 21-hidroxiáz enzimdefektusban érintett átalakulások



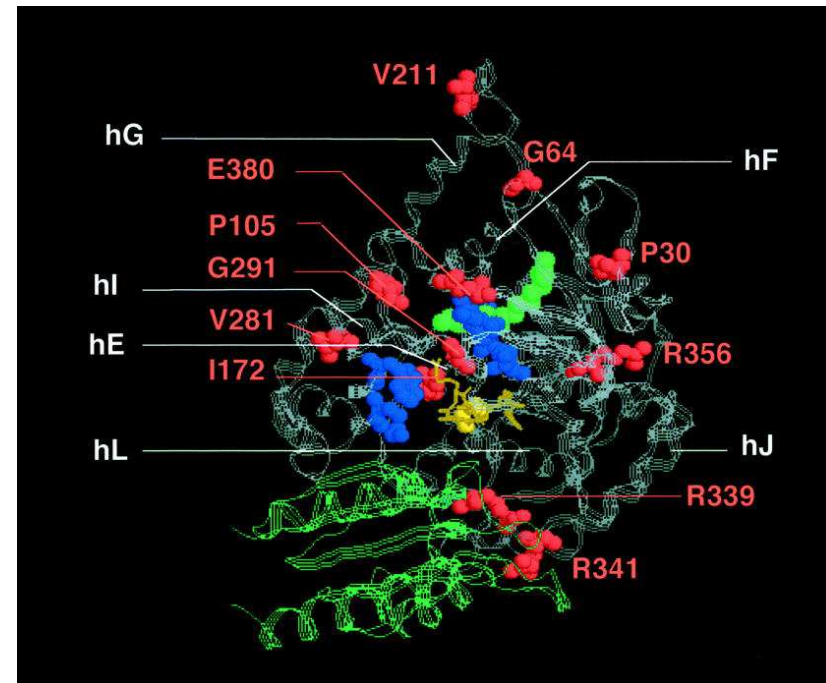
# Genetika: A *CYP21B* gén fontosabb patogén mutációinak hatása az enzimaktivitásra

Enzimaktivitás mérése:  
mutáns klónok expressziója  
sejtkultúrában

géndeléció, -konverzió  
Δ8 bp  
E6 cluster  
F306 +t  
Q318X  
R356W



3D fehérje model



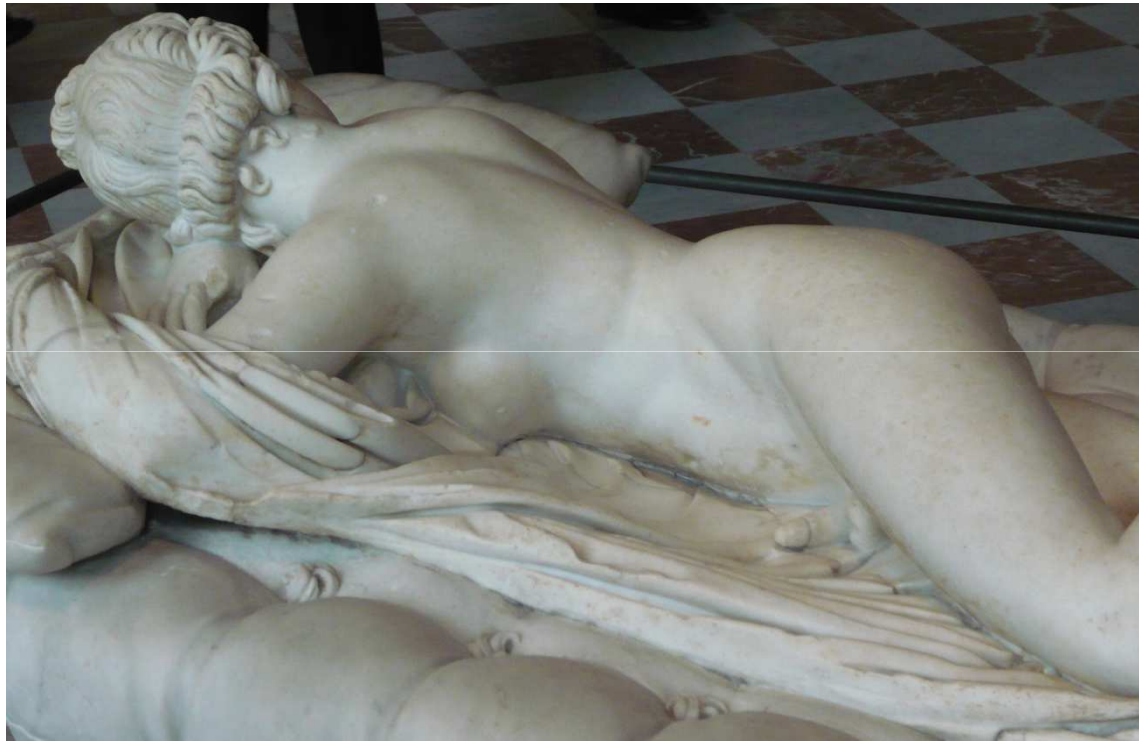
Nullmutáció	A	B	C
SW	SW	SV	NC



# A 21-hydroxylase defektus klinikai formái

	Klasszikus sóvesztő	Egyszerű virilizáló	Nem-klasszikus
<b>Életkor</b>	újszülött	újszülött (lány) 2-4 éves (fiú)	gyerek/felnőtt
<b>Genitália</b>	fiú: normális lány: átmeneti	fiú: normális lány: átmeneti	fiú/férfi: normális lány/nő: virilizált
<b>Incidencia</b>	1:14000	1:60000	1:1000
<b>Növekedés</b>	-2-3SD	-1-2SD	normál
<b>Hormonok</b>			
<b>Aldoszteron</b>	csökkent	normál	normális
<b>Kortizol</b>	csökkent	csökkent	normális
<b>17OHP</b>	>1500 ug/l	800-1500 ug/l	150-800 ug/l* de ACTH stimuláció után lehet magas
<b>Tesztoszt.</b>	Emelkedett	emelkedett	változó, emelkedett
<b>21-hydroxylase aktivitás</b>	0%	1%	20-50 %
<b>Tipikus CYP21A2 Mutációk</b>	deléción, E6 cluster R356W, Gln318X	I172N, I2 splice	V281L P30L

**A 21-hidroxiláz virilizáló formájában kialakuló pseudohermaphroditismus**

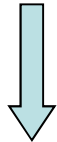


Hermaphrodita, Louvre Múzeum, Párizs

# A 21-hidroxiáz enzimdefektus diagnózisa és kezelése csak személyre szabottan képzelhető el

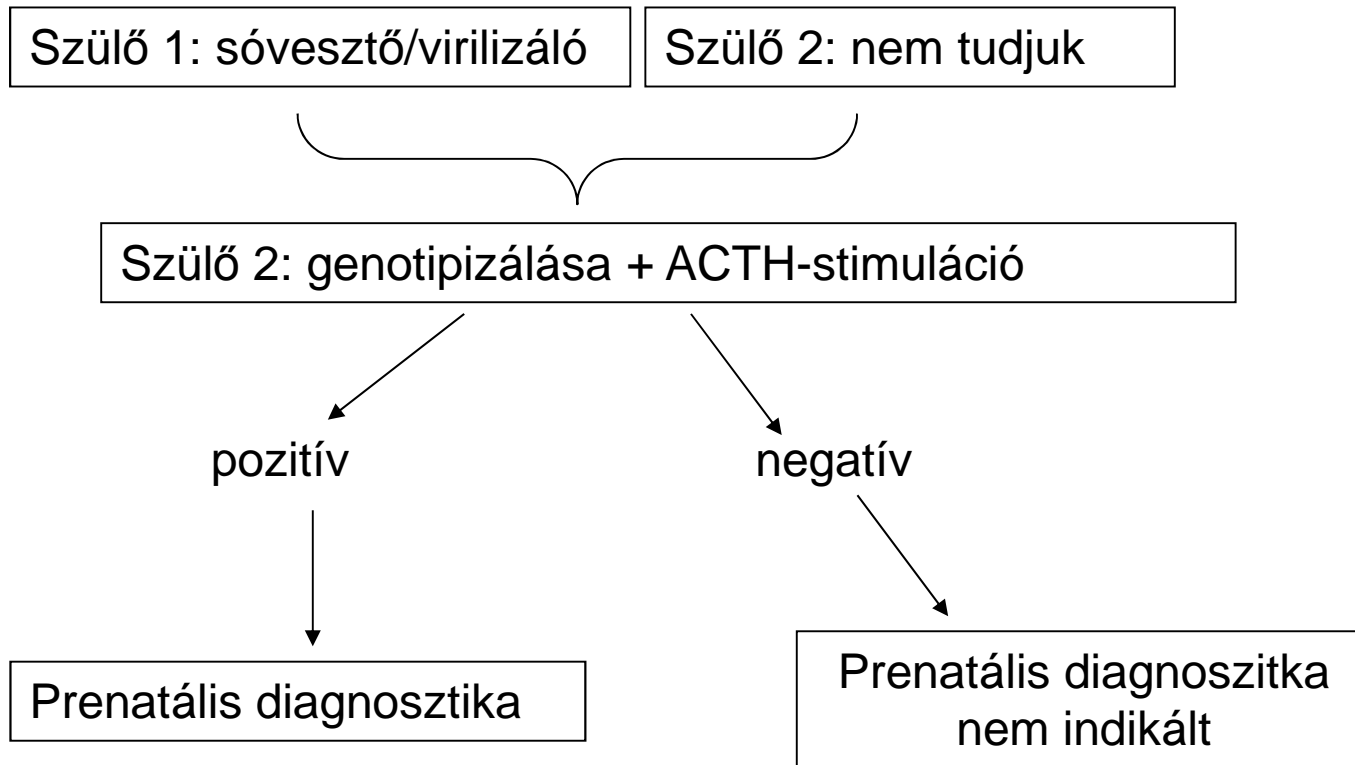
## Diagnosztika:

- klinikai gyanú
- laboratóriumi vizsgálatok: ionok, rutin kémia, hormonok
- **genetikai vizsgálatok**



- Egyértelmű diagnózis
- Genotípus-fenotípus ismeretek alapján:
  - Kezelés: mineralo-/glükokortikoid pótlás, terápiás dózis biztosítása, egyéni igény, sürhősségi állapotokban dózis növelés
  - Családtervezés során: nehezített teherbeesés, terhesség alatti hormonpótlás szükségessége???

# Genetikai tanácsadás szerepe 21-hidroxiáz defektusban



# Összefoglalás

Congenitalis adrenalis hyperplasia autoszomális recesszíven öröklődik

A szteroid bioszintézisben szerepet játszó enzimeket kódoló gének eltérései eredményezik

Klinikailag manifesztálódhat

- újszülöttkorban mint súlyos sóvesztő/vagy nem egyértelmű nemi jelleg
- pubertáskorban: nemi jellegek megjelenésének késése utalhat rá
- felnőttkorban: fertilitás zavar, hirsutismus, mellékvesekéreg hyperplasia (adenoma)

# Carney komplex

## Génhiba:

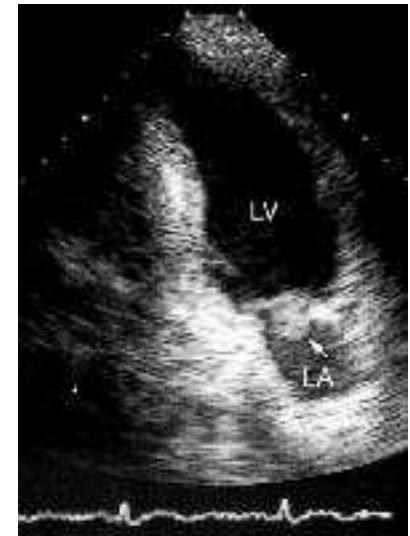
heterogén

**PRKAR1A mutáció (17q22)**

**PDE mutáció (2p16)**

## Társuló tumorok és fenotípus eltérések:

szív-pitvar és perif. myxomák,  
bőrön szeplők,  
endokrin daganatok



## Mellékvesekéreg tumor/hyperplasia:

primer pigmentált nodularis mellékvese hyperpl. (betegek 26 %-ában, gyakran atípusos hormonleleték vagy ciklikus Cushing szindróma)

# Örökletes endokrin daganatokért felelős gének kutatása: további lehetőségek

## Örökletes gén-polimorfizmusok asszociációs vizsgálata

- fenotípus módosítás, új, modifikáló gének felfedezése a familiáris esetekben
- sporadikus daganatokban, a familiáris eseteket eredményező gének polimorfizmusainak szerepe
  - RET, S836 (kis penetranciájú betegség- okozó variáns?)
  - Vhl: P25L, védő hatás?
  - SDHD: G12S?

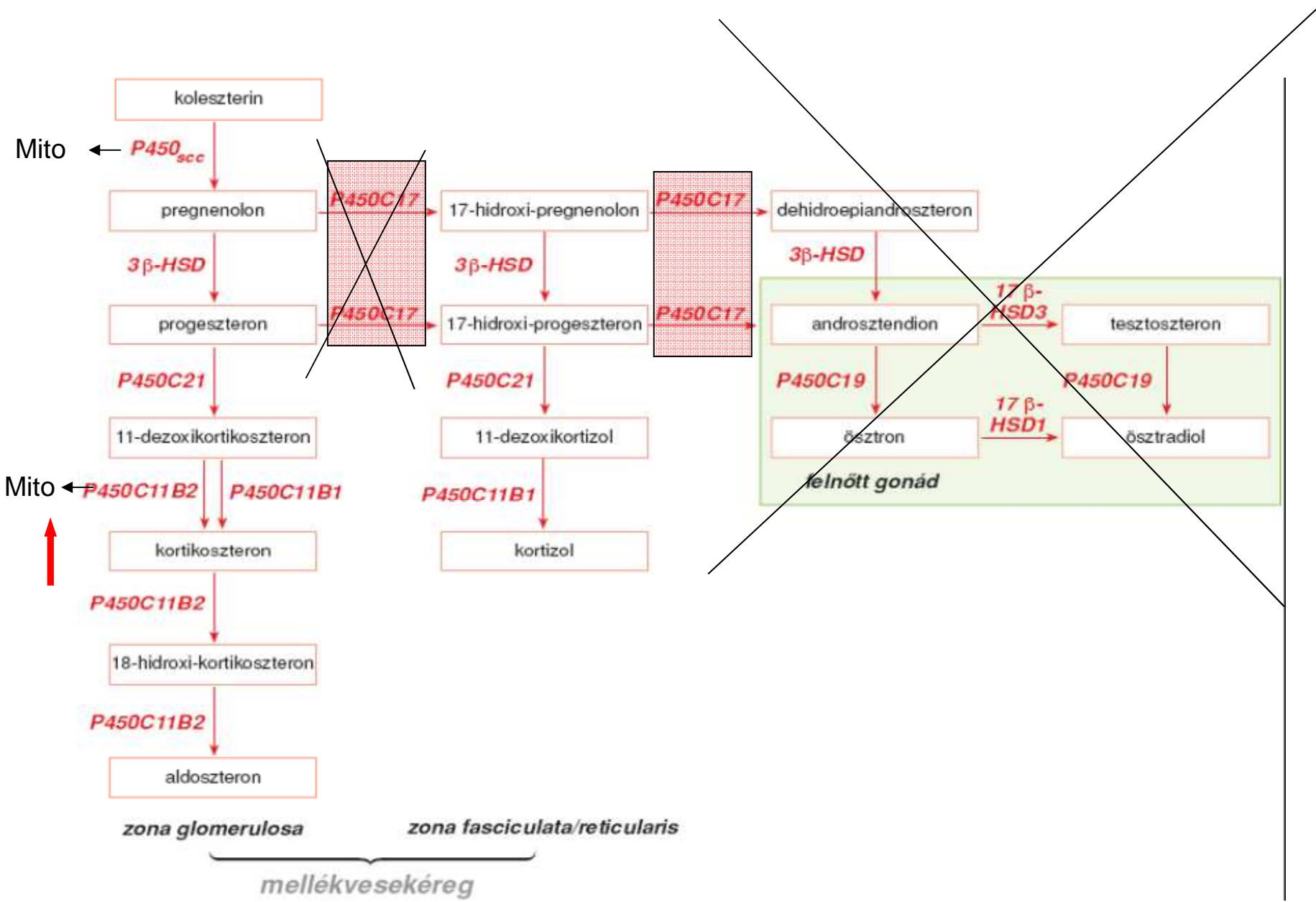
## Szomatikus mutációk sporadikus endokrin daganatokban

- MEN1 számos sporadikus endokrin tumor
- RET nem medulláris pajzsmirigy daganatok (RET-PTC fúziós gének)
- Vhl veserákokban allél vesztés

## Gének fehérje-termékei, mint a gyógyszer-fejlesztés új célmolekulái

- Tirozin kináz inhibitorok, angiogenezist gátló szerek

# 17alfa-hydroxylase, 17,20-liáz defektus





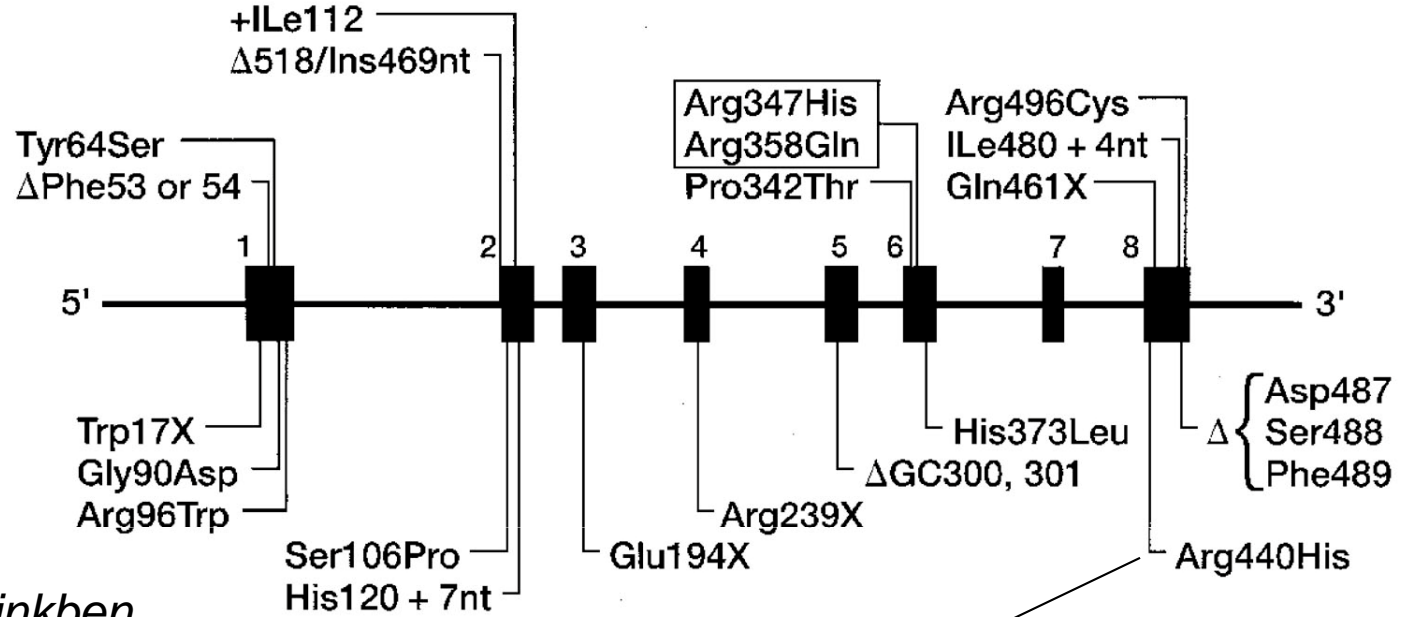
# 17alfa-hydroxylase,17,20-liáz defektusos betegek klinikai jellemzői

	1-es beteg	2-es beteg
Életkor (év)	37	31
Testsúly (kg)	81	56
Testmagasság (cm)	165	165
Vérnyomás (Hgmm)	220/140-150/90-140/80	160/90-120/70-130/80
Szérum kálium (mmol/l)	3,0-4,3	2,4-3,1-4,7-4,3
Mellékvese CT	Myelolipoma + mellékvese atrófia	Mellékvese hyperplasia
Gonád status	ovárium	Intraabdominális herék
Karyotípus	46XX	46,XY

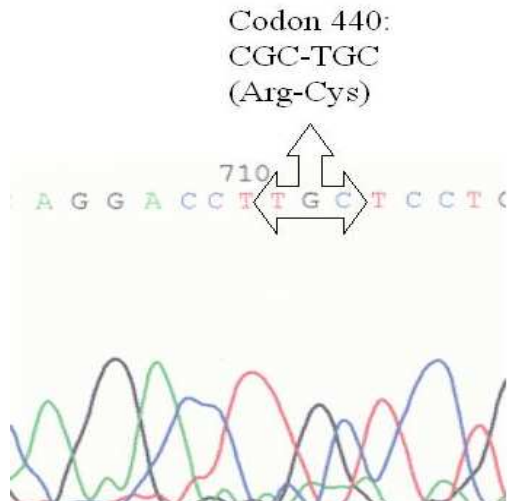
	1-es beteg	2-es beteg	Normál tartomány
ACTH (pg/ml)	176	496	20-60
Aldoszteron (ng/dl)	4	1	6-12
Kortizol (µg/dl)	1	2	8-25
Kortikoszteron (ng/dl)	<u>23700</u>	<u>23873</u>	300-600
Dehydroepiandr oszteron (ng/dl)	12	33	250-600
LH mIU/ml	33	67	< 10
FSH mIU/ml	79	113	< 10

# CYP17 gén legfontosabb patogén mutációi

*Irodalmi adatok*



*Saját betegeinkben*



# Ok-okozati kapcsolat igazolása, valóban betegség okozó-e a genetikai rendellenesség?

## Kérdések:

Mutáció vagy polimorfizmus?

Összefügg-e a klinikai képpel?

Funkcionális bizonyítás?

## Vizsgálatok/válasz:

Mutáció szűrés átlag populációban/  
gyakori eltérés-polimorfizmus, ritka-  
mutáció/szürkezóna-variáns

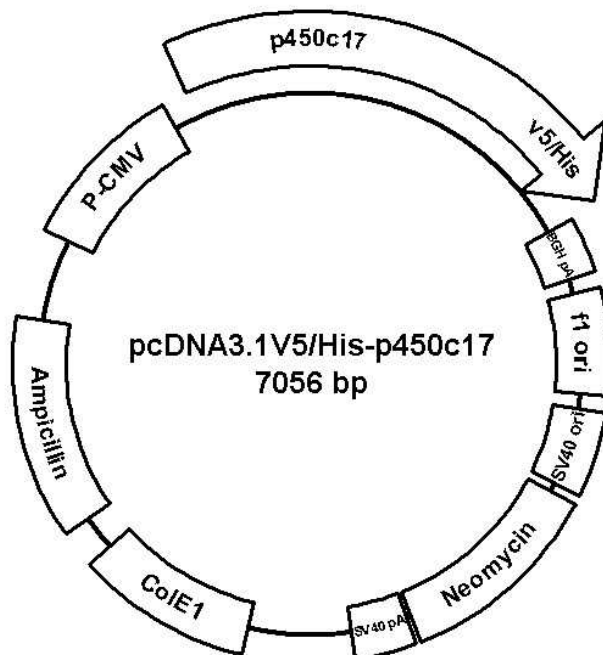
Igen: valószínűsíthető a betegség-okozó  
hatás

Nem: nem ez a genetikai rendellenesség  
felelős a betegség kialakulásáért

Expressziós rendszer készítése és a  
kiesett funkció bizonyítása

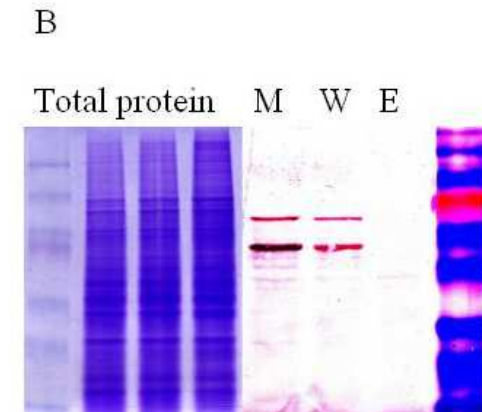
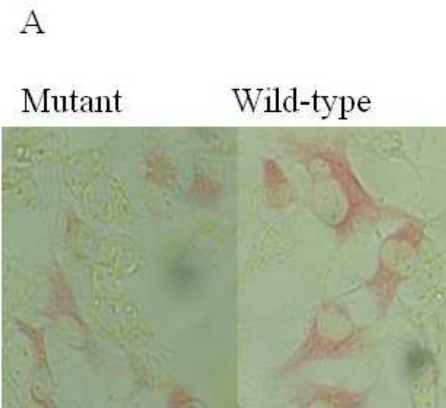
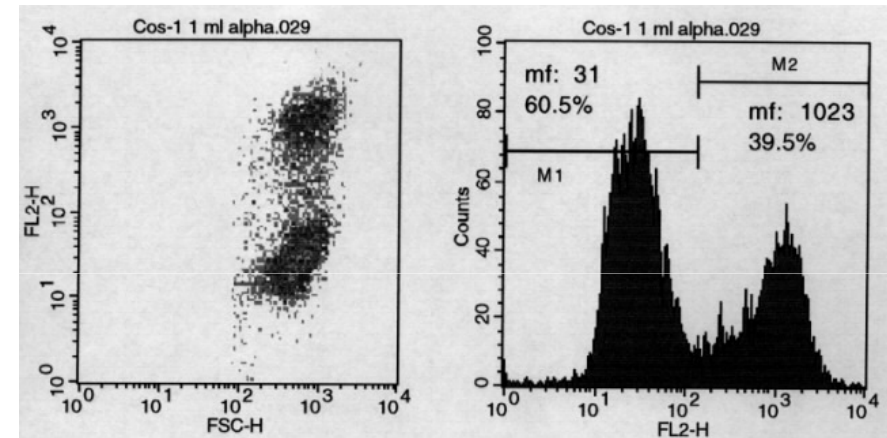
# Új *CYP17* génmutáció funkcionális bizonyítása

Expressziós vektor készítése

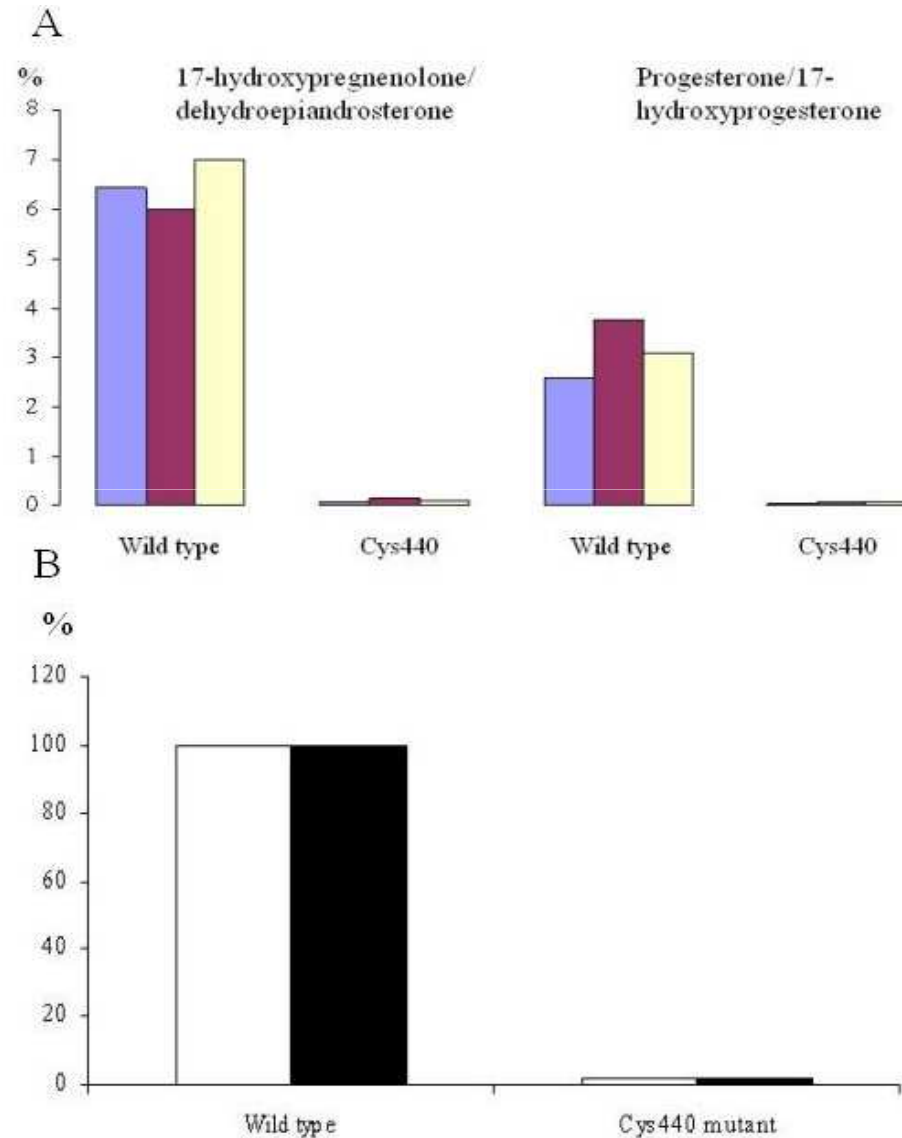


COS sejtbe történő transzfektálás

A mutációt és vad típusú allélt hordozó sejtek kimutatása immunhisztokémiával, western-blottal és flow-citométerrel



# A mutációt és a vad típusú allélt hordozó sejtek 17-hidroziláz és 17,20-liáz enzim aktivitásainak tesztelése



# 17alfa-hydroxylase, 17,20-liáz defektus klinikai jellemzői

- Kortizol és androgének elégtelen szintézise
- Aldoszteron szintézis normális vagy fokozott

## Klinikai megjelenés és diagnózis:

- Hipertónia
- Általában a pubertás környékén a nemi jellegek kialakulásának elmaradása miatt:
  - XX kariotípusban primér amenorrhoea, nemi jellegek hiánya
  - XY kariotípusban pseudohermaphroditizmus, női külső nemi jelleg

## Laboratóriumi jelek:

Csökkent kortizol és androgének  
Emelkedett LH, FSH  
Emelkedett DOC