

A veleszületett többszörös hypophysishormon-hiány genetikai okai. A *PROPI* génmutációk vizsgálata hazai betegekben

Halász Zita dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. Gyermekklinika, Budapest

Munkámban veleszületett többszörös hypophysishormon-hiányban szenvedő betegekben a növekedéshormon-pótló kezelés eredményeit elemeztem és a betegség hátterében álló betegségek okozó hypophysis transzkripciós faktor gén mutációit vizsgáltam. Megállapítottam, hogy növekedéshormon-hiányban szenvedő gyermekek kezelésére szervezett keretek között elsőként rendelkezésre álló humán növekedéshormon-készítmény 7 évnél hosszabb alkalmazása után a betegek átlagos testmagassága a hazai kor- és nemspecifikus adatok szerinti normális tartományba került. Klinikai feltételrendszert dolgoztam ki a *PROPI* génmutációk szűrésére és 35, veleszületett többszörös hypophysishormon-hiányos betegben elvégeztem a gén összes kódoló exonjának mutációanalízisét. A vizsgált 35 beteg közül 15 betegben (43%) találtam betegségek okozó mutációt. Megállapítottam, hogy a mutáns allélok több mint 80%-át a 150delA- és 301-302delGA mutációkat tartalmazó allélek tették ki. Ezek az eredmények hazai veleszületett többszörös hypophysishormon-hiányos betegekben a *PROPI* gén mutációs „hot spotjának” kiemelkedő jelentőségét bizonyítják, és egyben lehetőséget nyújtanak a *PROPI* génmutáció-szűrés racionális és költséghatékony stratégiájának kidolgozására. *PROPI* génmutációt hordozó és nem hordozó veleszületett többszörös hypophysishormon-hiányos betegek klinikai és hormonadatainak összehasonlításával megállapítottam, hogy a *PROPI* génmutációt hordozó betegekben a növekedéshormon-szekréció zavarát szignifikánsan korábbi életkorban diagnosztizálták, mint a mutációt nem hordozó betegekben, azonban a növekedéshormon-hiány diagnózisának megállapításakor a növekedésmaradás mértékében vagy a társuló TSH-, LH-, FSH- és ACTH-hiány megjelenésének időpontjában nem találtam különbséget a két csoport között. *PROPI* génmutációt nem hordozó 15, veleszületett többszörös hypophysishormon-hiányos betegben a *POU1F1* gén mutációs „hot spotját” tartalmazó 6. exon analízisével nem találtam heterozigóta- vagy homozigótamutációt. Ezek az eredmények nem támasztják alá azt a lehetőséget, hogy hazai betegekben a *POU1F1* gén mutációs „hot spotjának” betegségek okozó szerepe lenne. Módszert dolgoztam ki a hypophysis fejlődésében és a lateralisációs zavarokban egyaránt jelentőséggel bíró *PITX2* génmutációk kimutatására. A módszert sikeresen alkalmaztam egy situs inversus totalishoz társuló veleszületett többszörös hypophysishormon-hiányos betegben a gén nukleotidszekvenciájának vizsgálatára, azonban nem sikerült mutáció jelenlétét bizonyítanom. Eredményeim nem bizonyítják, hogy a *PITX2* gén mutációinak szerepe lehet a situs inversus totalissal társuló veleszületett többszörös hypophysishormon-hiány kialakulásában. Orv. Hetil., 2011, 152, 221–232.

Kulcsszavak: veleszületett kombinált hypophysiselégtelenség, *PROPI* gén, *POU1F1* gén, *PITX2* gén

Genetic background of inherited multiple pituitary hormone deficiency. Mutations of *PROPI* gene in Hungary

In this work I analysed the outcome of growth hormone replacement treatment in patients with inherited form of multiple pituitary hormone deficiency and examined disease-causing mutations of pituitary transcription factor genes which may underlie this disorder. The results showed that after treatment for a longer than 7-year period with a growth hormone preparation available under well-controlled distribution, the mean height of children with growth hormone deficiency reached the normal national reference range adjusted for age and sex. After establishment of clinical criteria for screening *PROPI* gene mutations, I performed mutational analysis of all coding exons of this gene in 35 patients with inherited form of multiple pituitary hormone deficiency. With these studies, disease-causing *PROPI* gene mutations were detected in 15 of the 35 patients (43%). It was also found that more than 80% of mutant alleles were accounted for by those containing the 150delA and 301-302delGA mutations of the *PROPI* gene.

Importantly, these findings indicated a high relevance of mutational "hot spots" of the *PROPI* gene in Hungarian patients with inherited form of multiple pituitary hormone deficiency and they also offered an opportunity for the development of rational and cost-effective screening strategy. When clinical and hormonal findings of patients with and without *PROPI* gene mutations were compared, results showed that growth hormone deficiency was diagnosed at earlier age of life in patients with *PROPI* gene mutations, but the severity of growth retardation at the time of diagnosis of growth hormone deficiency or the age of patients at the time of manifestation of other pituitary hormone deficiencies (TSH, LH, FSH and ACTH) were similar in the two groups of patients. In 15 patients inherited form of multiple pituitary hormone deficiency who had no *PROPI* gene mutations, exon 6 of the *POU1F1* gene containing a mutational "hot spot" was also examined but no mutations were found. Thus, these results do not support a significant role of the mutational "hot spot" of the *POU1F1* gene in Hungarian patients with inherited form of multiple pituitary hormone deficiency. Finally, I introduced a method for the detection of mutations of the *PITX2* gene, a pituitary transcription factor that plays a role not only in pituitary development and differentiation but also in the lateralization of organs. With the use of this method, I performed mutational analysis of all coding exons of this gene in an exceptionally unique patient who had both situs inversus totalis and inherited form of multiple pituitary hormone deficiency, but no mutation was found. Thus, the findings in this patient failed to indicate that mutation of the *PITX2* gene is involved in the pathomechanism of situs inversus totalis associated with inherited form of multiple pituitary hormone deficiency. Orv. Hetil., 2011, 152, 221–232.

Keywords: inherited form of multiple pituitary hormone deficiency, *PROPI* gene, *POU1F1* gene, *PITX2* gene

(Beérkezett: 2010. december 18.; elfogadva: 2010. december 30.)

Rövidítések

ACTH = adrenokortikotrop hormon; FSH = folliculusstimuláló hormon; GH = növekedési hormon; HESX1 = homeo-domain transcription factor 1; LHX3 = LIM homeobox transzkripció faktor 3; LHX4 = LIM homeobox transzkripció faktor 4; LH = luteinizáló hormon; MPHD = multiple pituitary hormone deficiency; MRI = magnetic resonance imaging; PCR = polymerase chain reaction; PITX2 = paired like homeodomain transzkripció faktor 2; POU1F1 = POU domain, class 1, transzkripció faktor 1; PROP1 = prophet of Pit1 transzkripció faktor; rhGH = rekombináns humán növekedési hormon; TSH = tireotrop hormon; ZIC3 = Zic family member 3 heterotaxy 1 gene

A veleszületett többszörös hypophysishormon-hiány (MPHD) leggyakoribb klinikai tünete a növekedési hormon (GH) elégtelen szekréciója miatt kialakuló alacsony növés, amelyhez a hypopituitarismus egyéb tünetei társulnak (1. táblázat). A betegek kezelésére hazánkban 1977 óta állnak rendelkezésre országosan szervezett keretek között humán növekedéshormon-készítmények, amelyek a társuló hypophysishormon-hiánynak megfelelő hormonpótló kezeléssel kiegészítve hatékonyan alkalmazhatók és a betegség tüneteinek megszüntetésére vagy enyhítésére [1, 2].

A hypophysis fejlődésével és a különböző hypophysishormonokat termelő sejtek differenciálódásával foglalkozó alap kutatások az elmúlt mintegy 10 évben olyan új sejtszintű szabályozó folyamatokat tártak fel, amelyek veleszületett zavara közvetlen oki tényezőt jelent az MPHD kialakulásában [3, 4]. A kutatásokkal egyértelműen bizonyították, hogy a hypophysisorgano-genesis különböző szakaszait és a különböző hormon-termelő képességű sejt vonalak differenciálódását különböző hypophysistranszkripció faktorok szabályozzák, és

ezeket a szabályozó fehérjéket kódoló gének csírasejtes defektusa az adott gén működéskiesését tükröző fenotípussal járó MPHD-t okoz. A betegségek okozó génmutációkkal kapcsolatos klinikai megfigyelések ugyanakkor rávilágítottak arra is, hogy a hypophysistranszkripció faktorok egy részének defektusa a hypophysisen kívül más szervek fejlődésének és működésének zavarával

1. táblázat | Az adenohypophysis elégtelen hormontermelésével összefüggő legfontosabb klinikai tünetek

| Hormonhiány | Tünet |
|-------------|---|
| GH | Hypoglykaemia (újszülöttkor) Szomatikus retardáció (gyermekkor) Csontritkulás Lipidanyagcsere-zavar |
| ACTH | Szomatikus retardáció (gyermekkor) Gyengeség Hányinger, hányás Hasi panasz, fejfájás |
| TSH | Szomatikus retardáció (gyermekkor) Mentális fejlődési zavar (gyermekkor) Száraz bőr Bradycardia Fáradékonyság |
| FSH/LH | Micropenis, cryptorchismus (újszülöttkor) Pubertas tarda Primer/szekunder amenorrhoea, dysmenorrhoea Libidócsökkenés, impotencia, gyér szórzet |
| MPHD | Gyér szórzet, elvékonyodott, sápadt, hipopigmentált bőr Lassúbb mentális működés Hangulatromlás, depresszió Anaemia Fokozott inzulinérzékenység Hyponatraemia, kóros lipidprofil |

járhat [5, 6]. Ennek egyik különösen érdekes aspektusa a test bal/jobbszimetriájának szabályozása, amelyben – állatmodelleken szerzett megfigyelések alapján – egy hypophysistranszkripciós faktornak, a paired like homeodomain transzkripciós faktor 2-nek (*PITX2*) is szerepe lehet.

Munkám első részében GH-hiányban szenvedő gyermekekben a hazánkban elsőként rendelkezésre álló humán GH-készítmény alkalmazásával nyert hosszú távú eredményeket elemzem [7]. Ezt követően beszámolok azokról a vizsgálatokról, amelyek az európai népességben leggyakoribb, de a különböző európai országokban jelentősen eltérő két hypophysistranszkripciós faktort kódoló gén mutációinak elemzésével foglalkoznak (prophet of Pit1 transzkripciós faktor, *PROPI* gén; POU domain, class 1, transzkripciós faktor 1, *POUIF1* gén) [8, 9]. Végül ismertetem egy MPHD-ben és situs inversus totalisban szenvedő betegben a *PROPI*, *POUIF1* és *PITX2* gének összes kódoló exonjának mutációanalízisével nyert eredményeket [10], amely géneket situs inversus totalissal társuló MPHD-ben a nemzetközi irodalomban korábban még nem vizsgálták.

Célkitűzések

Célkitűzéseimet az alábbi 5 pontban fogalmaztam meg:

1. GH-hiányban szenvedő gyermekek kezelésére hazánkban 1977 óta állnak rendelkezésre országosan szervezett keretek között humán GH-készítmények. A kezelés kezdeti tapasztalatainak felmérésére célul tűztam ki idiopathiás GH-hiányban szenvedő gyermekekben az elsőként rendelkezésre álló GH-készítmény alkalmazásával nyert eredmények elemzését.

2. MPHD-ben szenvedő betegekben a *PROPI* génmutációk betegségokozó szerepéről az első nemzetközi közlemény 1998-ban jelent meg, a génmutációk gyakoriságát felmérő későbbi vizsgálatok azonban jelentősen különböző gyakoriságot jeleztek. Ezért munkámban célul tűztam ki a veleszületett MPHD-s hazai betegek körében a *PROPI* génmutációk gyakoriságának és spektrumának meghatározását.

3. Veleszületett MPHD-s betegek klinikai, hormonlaboratóriumi és genetikai vizsgálatainak eredményeinek elemzésével választ kerestem arra a kérdésre, hogy a betegségokozó *PROPI* génmutációt hordozó hypophysishormon-hiányos betegek klinikai és/vagy hormonlaboratóriumi paraméterei különböznek-e a *PROPI* génmutációt nem hordozó hypophysishormon-hiányos betegek paramétereitől. Célul tűztam ki továbbá a betegségokozó *PROPI* génmutációt hordozó MPHD-s betegekben a mutáció típusa és a klinikai és/vagy hormonlaboratóriumi eltérések közötti lehetséges összefüggések elemzését.

4. Nemzetközi irodalmi adatok szerint veleszületett MPHD-s betegekben a *PROPI* génmutációknál lényegesen ritkább *POUIF1* génmutációk a gén meghatározott szakaszán (mutációs „hot spot”) találhatók. Munkámban választ kívántam kapni arra a kérdésre, hogy többszörös MPHD-s hazai betegekben a *POUIF1* gén leggyakoribb mutációs helyén előfordulnak-e betegségokozó mutációk.

5. A *PITX2* gén a hypophysishormon-termelő sejteinek fejlődésének és működésének szabályozásán kívül állatmodellekben a szervezet bal/jobbszimetriájának kialakításában is szerepet játszik. Munkámban egy veleszületett MPHD-ben és situs inversus totalisban szenvedő betegben a *PROPI*, *POUIF1* és *PITX2* gének vizsgálatával a veleszületett MPHD és a situs inversus totalis közös genetikai hátterének lehetőségét kívántam tanulmányozni.

Betegek és módszerek

Betegek

GH-hiányos gyermekekben az epiphysisfugák záródását megelőzően alkalmazott tartós GH-kezelés hatékonyságának felmérésére három hazai gyermekendokrinológiai centrum részvételével 14, GH-pótló kezelésben részesülő hypopituiter beteg adatát dolgoztam fel. A betegek 7 évnél hosszabb ideig részesültek GH-kezelésben (emberi hypophysisből extrahált növekedéshormon-készítmény, Gormon, Serono). A kezelés megkezdésekor a betegek átlagéletkora 8 év, a GH-kezelés átlagos időtartama 9,2 év volt.

A hypophysistranszkripciós faktorokat kódoló gének mutációit 32 családból származó 35, MPHD-ben szenvedő betegben (13 lány/nő; 22 fiú/férfi) vizsgáltam. A betegeket hét gyermek-, illetve felnőttendokrinológiai centrum közreműködésével 3 év alatt vontam be a vizsgálatba. A betegek vizsgálatba vonását előre rögzített feltételekhez kötöttem, amelyek az alábbiak voltak: 1. endokrinológiai vizsgálatokkal egyértelműen igazolt GH-hiány, amelyhez legalább még egy hypophysismellsőlebens-hormon hiánya társult; 2. az MPHD gyermekkorban kezdődött, és 3. háttérben ismert okot (szülési sérülés perinatalis hypoxiával; koponyatrauma; intracranialis tumor, sella tájéki és/vagy hypothalamus-tumor) nem lehetett igazolni. A betegek szülei között vérrokonság nem fordult elő. A GH-hiány diagnosztikájának megállapításakor, illetve a GH-pótló kezelés kezdetekor a betegek átlagéletkora $7,7 \pm 3,6$ év volt. A molekuláris biológiai vizsgálatok végzésekor a betegek átlagéletkora $21,8 \pm 9,3$ év volt.

A molekuláris biológiai vizsgálatokba bevont 35 MPHD-s beteg közül egy betegben a klinikai vizsgálatok situs inversus totalist igazoltak.

Antropometriai vizsgálatok

A születési súly és hossz, a perinatalis anamnézis és a szülők testmagasságának adatait a rendelkezésre álló orvosi dokumentációból gyűjtöttem össze. A testmagasságadatokat a kor- és nemspecifikus magyarországi

referenciaadatok alapján értékeltem, az eltérést standard deviációs értékben fejeztem ki. A csontkor meghatározása a nem domináns oldali csukló/kéz röntgenfelvétel alapján történt.

Hormonvizsgálatok és dinamikus tesztek

A hypophysis-mellsőlebenszék működését bazális szérumszintek és standard dinamikus tesztek eredményei alapján értékeltem. Gyermekkorban a GH-termelő kapacitás meghatározása két különböző standard dinamikus (stimulációs) teszt eredményére alapult.

Radiológiai vizsgálatok

A hypothalamus-hypophysis régió morfológiájára vonatkozó adatokat a betegek sella tájéki régiójáról készült röntgen-, komputertomográfia- (CT) és mágneses-rezonancia- (MR) vizsgálatok során rögzített radiológiai vélemény alapján retrospektív módon elemeztem. A radiológiai lelet tartalmazta a középilonali struktúrák leírását, az intracranialis, illetve intrasellaris térfoglaló folyamatra utaló jeleket, a hypophysis állományának méretét, homogenitását, a hypophysis-hypoplasia vagy -hyperplasia jelenlétét és a neurohypophysis elhelyezkedését (normális vagy ectopiás neurohypophysis).

A situs inversus totalissal társult MPPH-ben szenvedő betegnél anatómiai és funkcionális MR-vizsgálat elvégzésére is sor került.

Immuncitokémiai vizsgálatok

A situs inversus totalishoz társult MPPH-ben szenvedő betegnél transnasalis kefébiopsziával a nasopharynx-epithelsejtek csillóinak motilitását fénymikroszkóp segítségével vizsgáltuk. Az epithelsejtek DNAH5 külső dynein fehérje immunhisztokémiai vizsgálatát nyúlban előállított DNAH5-ellenes antitest felhasználásával dr. Heymut Omran professzor kutatólaboratóriumában (Freiburg) végezték.

Molekuláris biológiai vizsgálatok

A hypophysistranszkripció faktorokat kódoló gének (*PROPI*, *POU1F1*, *PITX2*) mutációanalízise a Semmelweis Egyetem, II. Sz. Belgyógyászati Klinika Molekuláris Genetikai Laboratóriumában történt.

A genomális DNS izolálását EDTA-val alvadástól teljes perifériás vérből a kereskedelemben forgalmazott kitek segítségével végeztem. A DNS-mintákat a PCR-reakcióig -20°C -on tároltam. A genomális DNS-ből a vizsgált hypophysistranszkripció faktor gének exonjait polimeráz láncreakcióval (PCR) sokszoroztam. A *PROPI* és *POU1F1* gének sokszorozásához az irodalomban közölt szekvenciájú oligonukleotid primerpárokat használtam, míg a *PITX2* gén vizsgálá-

2. táblázat | Növekedési hormon-hiányos betegek klinikai paraméterei a növekedési hormon-kezelés előtt és a kezelés befejezésekor (n = 14)

| | Növekedési hormon-kezelés | | | |
|-------------------|---------------------------|----------------|---------------|----------------|
| | megkezdésekor | | befejezésekor | |
| | átlag | szélső értékek | átlag | szélső értékek |
| Életkor (év) | 8,0 | 4,2–12,1 | 17,8 | 14–21,2 |
| Testmagasság (cm) | 102 | 80,8–119,6 | 157,3 | 141,1–177,3 |
| Testmagasság, SDS | –3,85 | –7,5–(–3) | –1,0 | –2,9–+2 |
| Hosszkor (év) | 4,2 | <3–6,5 | 13,5 | 11,5–18,5 |
| Csontkor (év) | 5,6 | 1,5–9,6 | >14 | Nem adható meg |

3. táblázat | *PROPI* génmutációk és polimorfizmusok, valamint ezek allélgyakorisága többszörös hypophysishormon-hiányban szenvedő 35 betegben

| Mutáció | allélgyakorisága | Polimorfizmus | allélgyakorisága |
|--------------------|------------------|--------------------|------------------|
| 1. exon | | 1. exon | |
| nem volt | | Ala9Ala (27T>C) | 14/70 |
| 2. exon | | 2. exon | |
| 150delA | 12/70 | nem volt | |
| 301-302delGA | 12/70 | | |
| Arg73Cys (217C>T) | 2/70 | | |
| Arg99Stop (296C>T) | 1/70 | | |
| 3. exon | | 3. exon | |
| Phe117Ile (349T>A) | 3/70 | Ala142Thr (424G>A) | 10/70 |

tához a primereket Primer3 programmal terveztem. A primerpárok alkalmasak voltak a vizsgált exonon kívül az exon közeli intronikus szakaszokon előforduló mutációk detektálására.

A PCR-sokszorozást követően a vizsgált exonok nukleotidszekvenciáit DNS-szekvenáló készülék segítségével határoztam meg (ABI Prism 310 kapilláris DNS-szekvenáló vagy LiCOR IR2 DNS-szekvenáló készülék). A szekvenálást mind forward, mind reverse irányban elvégeztem.

Eredmények

A GH-hiányos gyermekek az epiphysisfugák záródását megelőzően heti 3–4 alkalommal, 6–18 NE/hét adagban intramuscularis injekció formájában kapták a GH-készítményt. A kezelés megkezdésekor a növekedési retardáció átlaga $-3,85$ SDS, a hosszkorlemlaradás a csontkorhoz képest átlagosan $-1,5$ év volt. A növekedési hormon-kezelés átlagos időtartama 9,2 év volt. Megállapítottam, hogy a tartós, 7 évnél hosszabb GH-pótló kezelés hatására a betegek átlagos testmagassága a hazai kor- és nemspecifikus adatok szerinti normális tartományba került (-1 SDS) (2. táblázat). Ez a kedvező

4. táblázat | Többszörös hypophysishormon-hiányban szenvedő betegek sella-MR-vizsgálatának eredménye

| | Adenohypophysis | | | Neurohypophysis | |
|--|-----------------|--------|-------------|-----------------|---------|
| | Hypoplasia | Normál | Hyperplasia | Eutopia | Ectopia |
| Összes beteg (n = 22) | 11 | 10 | 1* | 15 | 7 |
| <i>PROPI</i> mutációt hordozó beteg (n = 7) | 0 | 6 | 1* | 7 | 0 |
| <i>PROPI</i> mutációt nem hordozó beteg (n = 15) | 11 | 4 | 0 | 8 | 7 |

*Hat hónappal későbbi kontrollvizsgálat nem mutatta ki.

hatás megegyezik a nemzetközi irodalomban közölt adatokkal. A betegek dokumentációinak elemzésekor a kezeléssel összefüggésben mellékhatást nem találtam.

A *PROPI* génmutációt 35 MPHID-betegben vizsgáltam, akik közül 15 betegben (43%) találtam betegségkódot mutációt (3. táblázat). A 15 betegből 10 betegben a mutáció homozigóta formában fordult elő; 4 betegben a 2. exon 301-302delGA mutációját, ugyancsak 4 betegben a 2. exon 150delA mutációját, egy betegben a 2. exon Arg73Cys (217C>T) mutációját, egy betegben a 3. exon Phe117Ile (349T>A) mutációját észleltem. További 5 betegben a *PROPI* gén szekvenenciaanalízise során két, egymástól eltérő mutációt igazoltam. Ezekben az esetekben a szülői vérmintákból is elvégeztem a *PROPI* gén kódoló exonjainak molekuláris genetikai vizsgálatát annak tisztázására, hogy a két különböző mutáció ugyanazon allélen vagy a két allélen külön-külön fordul-e elő. Az eredmények mind az 5 betegben a *PROPI* gén compound heterozigóta mutációját bizonyították; 3 betegben 150delA és 301-302delGA mutációt, egy betegben 150delA és Phe117Ile (349T>A) mutációt és egy betegben Arg99Stop (296C>T/301-302delGA) mutációt találtam. A különböző mutációk gyakoriságának összesítése alapján a vizsgált betegekben a mutáns allélok 80%-át a 150delA és 301-302delGA mutációkat tartalmazó allélek tették ki.

A *PROPI* génmutációkon kívül az 1. exonon 6 betegben heterozigóta és 4 betegben homozigóta aminosavcserével nem járó Ala9Ala (27T>C) polimorfizmust mutattam ki. A 2. exonon nem találtam polimorfizmust. A 3. exonon egy betegben homozigóta, 8 betegben pedig heterozigóta formában észleltem Ala142Thr (424G>A) polimorfizmust.

A *PROPI* gén molekuláris genetikai vizsgálatának eredménye alapján a betegeket két csoportba osztottam. Az egyik csoportba azok a betegek tartoztak, akiknél a *PROPI* gén betegségkódot homozigóta vagy compound heterozigóta mutációját találtam (15 beteg), a másik csoportba pedig azok, akiknél nem találtam *PROPI* génmutációt (20 beteg). A két csoport klinikai adatainak összehasonlításakor megállapítottam, hogy a *PROPI* génmutációt hordozó betegekben a GH-szekréció zavarát korábbi életkorban diagnosztizálták, mint a mutációt nem hordozó betegekben (6,3±1,6 és 8,9±4,4 év, p<0,05), de a GH-hiány diagnózisának megállapításakor a növekedésmaradás mértékében a

két csoport között nem volt szignifikáns különbség. A GH-hiányhoz társuló TSH-, LH-, FSH- és ACTH-hiány megjelenésének időpontjában sem találtam szignifikáns különbséget a két betegcsoport között. A *PROPI* génmutációt hordozó csoportban 3 betegben, a mutációt nem hordozó csoportban 6 betegben a GH-hiányhoz ACTH-hiány is társult. A TSH-hiány mindkét csoportban már korai életkorban jelentkezett; a *PROPI* génmutációt hordozó betegek mindegyikénél, míg a mutációt nem hordozó csoportban a betegek többségénél a TSH-hiányt már a GH-hiány diagnózisának időpontjában kimutatták. Az LH- és FSH-hiányt mindkét csoportban a várható pubertáskor után igazolták. A vizsgálat időpontjában a két csoportból egyaránt 11 beteg tartozott a pubertás utáni életkorba, és ezek közül a betegek közül egyetlen betegben sem jelentkezett spontán pubertás.

A *PROPI* génmutációt hordozó betegek közül egy betegben az MR-vizsgálat az adenohypophysis átmeneti megnagyobbodását jelezte. A többi *PROPI* génmutációt hordozó és nem hordozó betegben az agyalapi mirigy morfológiailag épnek vagy hypoplasiásnak bizonyult. *PROPI* génmutációt hordozó betegben a hypophysis-hátsólebeny lokalizációja minden esetben normális volt, míg a mutációt nem hordozó betegek közül 7 betegben ectopiás hátsó lebeny ábrázolódott (4. táblázat).

A vizsgálatba bevont 35 beteg közül 15 betegben, akiknél a *PROPI* gén három kódoló exonjának DNS-analízise során betegségkódot mutációt igazolni nem tudtam, a molekuláris genetikai vizsgálatokat a *POU1F1* gén 6. exon DNS-analízisével egészítettem ki. A vizsgálatlal egyetlen esetben sem tudtam betegséget okozó mutációt kimutatni.

Az MPHID-ben és situs inversus totalisban szenvedő betegben a nem kielégítően kezelt hypophysis-elégtelenség jellegzetes képét észleltem. Dysmorphiás jeleket nem találtam. A fizikális vizsgálat, elektrokardiogram, echokardiográfiás vizsgálat, mellkasröntgen, hasi ultrahang, bárium kontrasztanyagot enterográfia és gasztroszkópia a situs inversus totalis diagnózisát megerősítette. A beteg jobbkezes volt. A koponya-MR-vizsgálat hypophysismellsólebeny-hypoplasiát és ectopiás hátsó lebenyt mutatott ki, egyéb agyi struktúráis eltérést nem talált. A funkcionális MR-vizsgálat a beszéd és beszédértés során a bal oldali agyfélteke aktiválódását igazolta. A betegről transnasalis kefebiopsziát

val nyert nasalis epithelsejtek csillóinak fénymikroszkópos vizsgálata megfelelő csillómozgást igazolt. A DNAH5 antitesttel végzett immunhisztokémiai vizsgálat az epithelsejtek csillóiban DNAH5 fehérje jelenlétét mutatta ki. A *PROPI* gén 3 kódoló exonjának analízise során az 1. exonon aminosavcserét nem okozó heterozigóta 27T>C polimorfizmust (Ala9Ala) találtam, de betegségokozó mutációt nem tudtam kimutatni. A *POU1F1* gén 1–6 exonjának és a *PITX2* gén 4–7 exonjának nukleotid-szekvenciaanalízisével betegségokozó mutáció vagy polimorfizmus jelenlétét nem tudtam igazolni.

Megbeszélés

Növekedéshormon-kezelés

Kezelés nélkül a GH-hiányban szenvedő betegek végmagassága körülbelül –5 SDS-sel marad el az átlagtól. *Raben* 1958-ban közzétett klasszikus megfigyelése [11] óta ismert, hogy hypophysiselégtelenséggel összefüggő alacsony növekedés esetén az epiphysisfugák záródását megelőzően alkalmazott humán GH-készítmény kedvező hatást fejt ki a növekedésre. E felismerést követő években és évtizedekben világszerte átfogó munkával cadaverekéből gyűjtötték az agyalapi mirigyeket, és az ezekből kivont humán GH-készítményekkel végezték a kezelést. Világszerte több mint 27 000 gyermeket kezeltek cadaverhypophysisből kivont GH-készítménnyel [12]. Magyarországon 1977-től a gyermekkori GH-hiányban szenvedő betegek GH-kezelését országos hatáskörű szakmai bizottság irányította. A diagnózis és kezelés irányelveit 1982-ben módszertani levélben foglalták össze.

Az 1980-as évek végéig, más országokhoz hasonlóan, hazánkban is humán hypophysisből nyert GH-készítmény állt rendelkezésre a GH-hiányos gyermekek kezelésére. *Péter és mtsai* 1970-ben [13], *Gács* 1975-ben [14], *Péter és mtsai* 1981-ben a rövid ideig alkalmazott Gorm-kezelés hazai tapasztalatait összegezték [2]. *Gács* 1984-ben közzétett megfigyelései szerint a hosszabb, 2–7 évig tartó Gorm-kezelés során a testmagasság-lemaradás átlagosan –4 SDS-ről –2,5 SDS-re csökkent [1].

Munkámban egy 1994-ben lezárt vizsgálat kapcsán 14 GH-hiányos gyermek tartós, 7 évnél hosszabb GH-kezelésének eredményeit értékeltem. Valamennyi beteget humán hypophysisből kivont GH-készítménnyel kezelték (Gorm). A GH-kezelés megkezdésekor a betegek átlagéletkora megegyezett a nemzetközi irodalomban közölt adatokkal, és a klinikai paraméterek jelentős testmagasság-, hosszkor- és csontkorlemaradást jeleztek. A GH-készítményt az 1975–1985 közötti ajánlásoknak megfelelően alkalmazták. Kimutattam, hogy a tartós, 7 évnél hosszabb Gorm-kezelés hatására a betegek átlagos testmagassága a hazai kor- és nemspecifikus adatok szerinti normális tartományba került (–1,0

SDS). Ez a kedvező hatás megegyezik a nemzetközi irodalomban közölt adatokkal.

A GH-kezelés eredményeinek értékelésekor figyelmet fordítottam a kezelés során észlelt mellékhatásokra is. A betegek dokumentációinak elemzésekor a kezeléssel összefüggésben mellékhatást nem találtam.

1985-ben számoltak be elsőként arról, hogy humán hypophysisből származó GH-készítménnyel kezelt betegekben évekkel a kezelés befejezése után a kezeléssel összefüggésbe hozható Creutzfeldt–Jakob-betegség alakult ki, amelyet a nem megfelelően tisztított GH-készítménnyel átvitt lassú vírusfertőzés okozott [15, 16]. Ezért a humán hypophysisből kivont GH-készítmények forgalmazását rövid időn belül világszerte, így hazánkban is megszüntették, és ezek helyét az ekkorra már rendelkezésre álló rekombináns géntechnológiai eljárással készült szintetikus GH-készítmények foglalták el. Hazánkban agyalapi mirigyből származó humán GH-készítménnyel összefüggésbe hozható Creutzfeldt–Jakob-betegség nem ismert.

A rekombináns humán GH (rhGH) -készítmények térhódítása ellenére a hypophysisből nyert humán GH-készítménnyel szerzett hosszú távú tapasztalatok értékelése nem érdektelen, hiszen az rhGH-kezelés stratégiája és gyakorlata a hypophysisből nyert GH-készítményekkel szerzett megfigyelésekre alapozódtak. A hypophysisből nyert GH-készítmények bizonyították a GH-pótló kezelés racionalitását és hatékonyságát, a kezelés optimalizálását és a kezelési indikációk bővítését, azonban a gyakorlatilag korlátlan mennyiségben előállítható rhGH-készítmények tették lehetővé. A korábbi, hetente 3–4 alkalommal, az epiphysisfugák záródásáig alkalmazott GH-kezelés helyett jelenleg naponta adagoljuk az rhGH-készítményeket. Nagyfokú növekedésmaradottság esetén (testmagasság SDS <3,5, növekedési ráta <3 pc) az rhGH-kezelés akkor is megkezdhető, ha a dinamikus stimulációs tesztek során mért szérumszintű GH-koncentráció csúcsértéke 7–10 ng/ml között van. A kezdeti gyakorlathoz képest jelentős előrelépést jelent az is, hogy mintegy 10 éve hazánkban is lehetővé vált a gyermekkorban kezdődő és a felnőttkorba való átmenet időszakában (18–25 év) dinamikus GH-stimulációs teszttel újraigazolt GH-hiányos betegek a felnőttkorban is folytassák az rhGH-kezelést. A felnőttkori GH-kezelés hazai tapasztalatairól a felnőtt GH-hiányos betegek kezelését irányító centrumok közleményben számoltak be [17].

PROPI gén

MPHD-ben szenvedő betegekben a *PROPI* génmutációk gyakoriságára vonatkozó nemzetközi irodalmi adatok ellentmondóak. Azok a vizsgálatok, amelyeket a kaukázusi népességben végeztek, viszonylag nagy gyakorisággal mutattak ki MPHD-s betegekben *PROPI* géndefektust [18, 19, 20, 21, 22]. E vizsgálatok azt is jelezték, hogy a betegségokozó mutációk többsége

5. táblázat | *PROPI* génmutációk gyakorisága többszörös hypophysishormon-hiányos betegekben. Nemzetközi irodalmi és saját adatok

| Ország | Vizsgált MPHD-s betegek száma | Homozigóta- vagy compound heterozigótamutációt hordozó betegek száma | Mutációt hordozó betegek százalékos gyakorisága | Irodalom |
|--------------------|-------------------------------|--|---|-----------------------------|
| Ausztrália | 33 | 0 | 0% | McLennan és mtsai 2003 [24] |
| Egyesült Királyság | 27 | 0 | 0% | Rainbow és mtsai 2005 [26] |
| Cseh Köztársaság | 74 | 18 | 24,3% | Lebl és mtsai 2005 [21] |
| Portugália | 46 | 19 | 41,3% | Lemos és mtsai 2006 [27] |
| Több ország* | 109 | 20 | 18,3% | Reynaud és mtsai 2006 [22] |
| Magyarország | 35 | 15 | 43% | Halász és mtsai 2006 [8] |

*Argentína, Belgium, Egyiptom, Franciaország, Libanon, Svájc, Törökország, Tunézia.

a *PROPI* gén mutációs „hot spotnak” megfelelő génszakaszán fordul elő. *Vallette-Kasic és mtsai* [23] 23, hypophysiselégtelenségben szenvedő beteget vizsgáltak, akik közül 9 betegben találtak betegségokozó *PROPI* géndefektust. Utóbbiak közül 8 betegben homozigótamutációt (301-302delAG mutáció 5 betegben, Arg73Cys mutáció 2 betegben és Arg73His mutáció egy betegben), egy betegben pedig compound heterozigótamutációt (Arg73Cys/Arg99X) észleltek. A *PROPI* génmutációk viszonylag nagy gyakoriságáról beszámoló közlésekkel ellentétben *McLennan és mtsai* 2003-ban [24], *Tatsumi és mtsai* 2004-ben [25] és *Rainbow és mtsai* 2005-ben publikált adatai [26] MPHD-s betegek körében a *PROPI* génmutációk ritka előfordulását jelezték, vagy nem találtak *PROPI* génmutációt. A *PROPI* génmutációk gyakoriságára vonatkozó néhány irodalmi adatot és a hazai betegek körében végzett vizsgálataim eredményeit az 5. táblázatot foglalja össze.

MPHD-s betegekben a *PROPI* génmutációk gyakoriságára vonatkozó jelentős különbségek oka nem ismert. Felvetették, hogy a különböző vizsgálatokban észlelt jelentős eltéréseket a leggyakoribb *PROPI* génmutációk előfordulásának etnikai különbözősége okozza [25]. Ez úgynevezett „founder” hatás lehetőségét veti fel, bár az sem zárható ki, hogy a mutációs „hot spot” egyéb genetikai jelenséggel, mint például ennek a génszakasznak mutációk iránti esendőségével (úgynevezett „recurrent” mutációk) áll összefüggésben. Mindezekon kívül a különböző vizsgálatokban a *PROPI* génmutációk eltérő gyakoriságát egyéb okok is magyarázhatják, mint például azok a feltételek, amelyek alapján az MPHD-s betegeket a molekuláris genetikai vizsgálatokba bevonták. A vizsgálatba bevont betegek kiválasztását a különböző vizsgálatokban gyakran különböző feltételekhez köthették, ami nem meglepő, hiszen a *PROPI* génmutáció-vizsgálat indikációira vonatkozó általánosan elfogadott ajánlás még nem áll rendelkezésre. Végül lehetséges az is, hogy a különböző vizsgálatokban a *PROPI* génmutáció-analízis eltérő eredményeit részben a sporadikus és familiáris MPHD-s betegek eltérő aránya okozta. *Reynaud és mtsai* sporadikus MPHD-s

betegekben kisebb (13,2%), míg familiáris MPHD-s betegekben nagyobb gyakorisággal (44%) mutattak ki *PROPI* génmutációt [22].

Saját vizsgálataimban, amelyek 35 hazai, MPHD-s beteget foglaltak magukba, a *PROPI* gén homozigóta vagy compound heterozigóta mutációinak gyakori (43%-os) előfordulását találtam. Ez a gyakoriság közel azonos *Lemos és mtsai* portugál betegekben talált adataival [27]. Valamennyi általam igazolt mutációt a nemzetközi irodalom betegségokozó mutációként tartja számon, ezért az észlelt mutációknak az MPHD-s betegekre való összefüggése bizonyosnak tekinthető. Új, a nemzetközi irodalomban még nem közölt *PROPI* génmutációt a vizsgált betegek körében nem találtam.

Saját vizsgálataim hazai MPHD-s betegekben megerősítik a *PROPI* gén 2. exonján a mutációs „hot spot” jelenlétét és ennek jelentőségét a betegség kialakulásában. A mutációs „hot spoton” azonos gyakorisággal találtam 150delA és 301-302delGA mutációkat (mindkét mutáció esetében 12/70 allél), amelyek az összes talált mutáció mintegy 80%-át tették ki. Saját vizsgálataimban és a nemzetközi vizsgálatokban talált mutációk spektrumának összehasonlítását a 6. táblázatban foglaltam össze. A táblázat jól szemlélteti, hogy a hazai betegekben végzett saját vizsgálathoz hasonlóan a 301-302delAG mutáció a nemzetközi vizsgálatokban is az összes *PROPI* génmutáció jelentős részét tette ki, míg a 150delA-mutáció az irodalomban közölt vizsgálatokban az összes mutáción belül eltérő gyakorisággal vagy egyes vizsgálatokban nem fordult elő. Vizsgálataim eredményei egyben azt is jelzik, hogy az általam alkalmazott feltételek alapján genetikai vizsgálatra kiválasztott, MPHD-ben szenvedő hazai betegek körében a *PROPI* génmutáció vizsgálata hatékony eszköz az MPHD hátterében álló genetikai ok kimutatására.

Korábbi megfigyelések szerint a *PROPI* géndefektus okozta klinikai kép változatos [28, 29]. Ugyanazon mutációt hordozó betegekben az elégtelen hormonszekrécióval összefüggő klinikai tünetek megjelenésének időpontja, sőt, a hypophysis-mellsőleány hormonhiányának kialakulási sorrendje is eltérő lehet. Leggyakrabban a GH-szekréció zavara jelentkezik, amely mér-

6. táblázat | *PROPI* génmutációk spektruma és allélgyakorisága többszörös hormonhiányos betegekben. Nemzetközi irodalmi és saját adatok

| Ország | <i>PROPI</i> génmutációk | Allélgyakoriság | Irodalom |
|------------------|---|--|----------------------------|
| Portugália | 301-302delAG Arg120Cys 2T>C | 28/92 (30%) 6/92 (7%) 4/92(4,3%) | Lemos és mtsai 2006 [27] |
| Cseh Köztársaság | 301-302delGA 150delA 349T>A | 26/148 (17,6%) 9/148 (6,1%) 1/148 (0,06%) | Lebl és mtsai 2005 [21] |
| Több ország* | Arg73Cys 301-302delGA Arg73His 150delA Trp194 Arg99Stop 629delC | 18/218 (8,2%) 11/218 (5%) 4/218 (1,8%) 3/218 (1,3%) 2/218 (1%) 1/218 (0,5%) 1/218 (0,5%) | Reynaud és mtsai 2006 [22] |
| Magyarország | 301-302delGA 150delA Phe117Ile Arg73Cys Arg99Stop | 12/70 (17,1%) 12/70 (17,1%) 3/70 (4,3%) 2/70 (2,9%) 1/70 (1,4%) | Halász és mtsai 2006 [8] |

*Argentína, Belgium, Egyiptom, Franciaország, Libanon, Svájc, Törökország, Tunézia.

sékelt vagy ritkábban nagyfokú növekedésmaradást okoz. Megfigyelték, hogy csecsemő- és kisdedkorban a *PROPI* génmutációkkal összefüggő növekedésmaradottság kisebb fokú, mint a hypophysistranszkripció faktorokat kódoló más gének defektusa esetén. *Modý és mtsai* 2002-ben közölt adatai szerint 1 éves korban az átlagos testmagasság *PROPI* génmutációt hordozó betegekben 67 cm, míg *POU1F1* génmutációt hordozó betegekben 61,5 cm [20].

A *PROPI* géndefektus okozta GH-hiány ritkán már csecsemőkorban jelentkezik. *PROPI* génmutációt hordozó gyermekekben a GH-hiány diagnózisának megállapításakor az átlagéletkor *Deladoëy és mtsai* [19] által vizsgált 35 betegben 6 év, *Parks és mtsai* [30] által vizsgált 37 betegben 8 év volt. Saját vizsgálataim eredményei szerint *PROPI* génmutációt hordozó betegekben a GH-szekréció zavarát szignifikánsan fiatalabb életkorban állapították meg, mint a mutációt nem hordozó betegekben, bár a GH-hiány diagnózisának megállapításakor a növekedésmaradás mértékében a két csoport között nem volt szignifikáns különbség. A *PROPI* génmutációt hordozó betegek GH-szekréciós kapacitásának fokozatos beszűkülését korábbi longitudinális vizsgálatokkal mutatták ki. *Flück és mtsai* [28] Arg120Gly homozigótamutációt hordozó betegben GH-stimulációs teszttel egyéves korban 10 ng/ml, 2 éves korban 8 ng/ml, 4 éves korban 6 ng/ml és 6 éves korban 2 ng/ml alatti szérumszintet találtak.

A betegségokozó *PROPI* génmutációt hordozó betegek korábbi longitudinális vizsgálatával azt is igazolták, hogy a GH-szekréció zavarához TSH-, FSH- és LH-szekréció-zavar, sőt, az esetek egy részében ACTH-szekréció-zavar is társul [31]. A progresszíven kialakuló hormonhiány időbeli alakulását *Deladoëy és mtsai* [19] *PROPI* génmutációt hordozó 35

MPHD-s betegen végzett vizsgálatai is igazolták. A TSH-szekréciós kapacitás fokozatos beszűkülését *PROPI* génmutációt hordozó betegekben *Flück és mtsai* [28] ismételt elvégzett TRH-teszttel bizonyították. Irodalmi adatok szerint a TSH-hiány 20 éves életkor előtt alakul ki. Saját vizsgálataimban a *PROPI* génmutációt hordozó betegekben a TSH-hiány már 10 éves életkor előtt jelentkezett. Korábbi megfigyelések szerint a *PROPI* génmutációhoz társuló FSH- és LH-szekréció-zavar miatt rendszerint elmarad a spontán serdülés, azonban néhány *PROPI* génmutáció esetében (például Arg120Cys és 150delA homozigótamutációk) spontán lezajló pubertást és ezt követően jelentkező centrális hypogonadismust is megfigyeltek [19, 28]. Saját vizsgálatomban 4 betegben találtam homozigóta 150delA mutációt, azonban a többi *PROPI* génmutációt hordozó beteghez hasonlóan egyetlen esetben sem észleltem spontán pubertást (A centrális hypogonadismus jelenlétét vagy hiányát a 15 *PROPI* génmutációt hordozó beteg közül 4 esetben nem lehetett megállapítani a pubertás előtti életkor miatt.)

Irodalmi adatok szerint a *PROPI* génnek nincs közvetlen szerepe az ACTH-termelő kortikotrop sejtek differenciálódásában [32]. Korábbi klinikai megfigyelések szerint a *PROPI* génmutációkhoz mégis társulhat ACTH-hiány, amelyet sejtek közötti együttműködési zavar vagy az átmeneti hypophysis-hyperplasia sejtkárosító hatása magyarázhat. Saját eredményeim, amelyek a *PROPI* génmutációt hordozó 15 beteg közül 3 betegben igazoltak ACTH-hiányt, ezeket a korábbi klinikai megfigyeléseket erősítik.

A *PROPI* génmutációt hordozó MPHD-s betegekben végzett korábbi radiológiai vizsgálatok a hypophysis-hypoplasia gyakori előfordulásáról számoltak be. Ezzel a megfigyeléssel ellentétben *Mendonca és*

mtsai egy *PROPI* génmutációt hordozó MPHD-s beteg esetét ismertették, akinél 8,8 éves korban a hypophysis mellső lebenyének megnagyobbodását észlelték, majd az elváltozás a beteg 15 éves korára megszűnt [33]. Vizsgálataim során a *PROPI* génmutációt hordozó betegek körében nem észleltem hypophysis-hyperplasiát, azonban egy betegben MR-vizsgálattal kimutatott hypophysismellsőlebeny-megnagyobbodást találtam, amit 6 hónappal később már nem lehetett kimutatni. *Voutetakis és mtsai* [34] véleménye szerint *PROPI* génmutációt hordozó MPHD-s betegekben az MR-vizsgálattal kimutatott hypophysismegnagyobbodást a hypophysis középső lebenyének megnagyobbodása okozhatja. Állatmodellekben végzett vizsgálatok eredményei ugyanakkor a progenitor sejtek migrációs zavarának szerepére utalnak [32].

Simon és mtsai 60 GH-hiányos betegben (30 izolált GH-hiány és 30 MPHD) a klinikai eltérések és a hypothalamus-hypophysis régió MR-vizsgálattal kimutatható morfológiai elváltozásai között kerestek összefüggéseket [35]. Munkájukban szoros kapcsolatot mutattak ki a hypophysis-hátsólebeny ectopiás elhelyezkedése és más fejlődési rendellenességek (szem, agyi struktúrák) között, de a betegekben a hypophysistranszkripció faktor génmutációit nem vizsgálták. Saját vizsgálataimban a *PROPI* génmutációt hordozó betegben a hypophysis-hátsólebeny lokalizációja minden esetben normális volt, míg a mutációt nem hordozó betegek mintegy felében ectopiás hátsó lebeny ábrázolódott. Ezek a megfigyelések néhány korábbi irodalmi adattal együtt arra utalnak, hogy a *PROPI* génmutációknak nincs szerepe a hypophysis-hátsólebeny ectopiájának patomechanizmusában.

POU1F1 gén

A *POU1F1* gén betegségek okozó mutációit MPHD-ben szenvedő betegekben több tanulmányban vizsgálták. A nemzetközi GENHYPOPIT vizsgálatban 195 MPHD-s betegben végezték el a klinikai kép alapján meghatározott feltételektől függően a *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *PROPI* és/vagy a *POU1F1* gén vizsgálatát (30 familiáris és 165 sporadikus eset). A *POU1F1* gén vizsgálatába bevont 17 beteg közül – akinél a GH-hiányhoz TSH-hiány társult, hypophysisnyél-sérülés és septoopticus dysplasia nélkül – egy betegben a 3. exonon Gly89Arg aminosavcserét okozó heterozigótamutáció igazolódott [36]. Az Egyesült Királyságban 26 családba tartozó 27 beteg vizsgálata során a 6. exonon mutattak ki mutációkat (két betegben homozigóta Phe233Leu-mutáció és a mutációs „hot spotnak” megfelelő Arg271Trp heterozigótamutáció) [26]. Saját vizsgálataimban a *POU1F1* gén mutációs „hot spotját” tartalmazó 6. exon mutációanalízisét azoknál az MPHD-s betegeknek végeztem el, akinél a *PROPI* génvizsgálattal nem találtam mutációt. A *POU1F1* gén 6. exonján kívül a közeli intronikus nukleotidszekvenciák vizsgál-

latára is alkalmas módszerrel a vizsgált 15 betegben nem találtam heterozigóta- vagy homozigótamutációt. Ezek a megfigyeléseim nem támasztják alá azt a lehetőséget, hogy hazai MPHD-s betegekben a *POU1F1* gén mutációs „hot spotjának” betegségek okozó szerepe lenne, bár a gén többi, általam nem vizsgált exonján mutációk jelenléte nem zárható ki.

PITX2 gén

Korábbi megfigyelések szerint az agyalapi mirigy organogenezisben szerepet játszó *PITX2* géndefektusnak kóroki szerepe lehet a részleges szervi lateralisációs zavarok egyes formáinak, mint például a nagyér-transzpozíció kialakulásában [37]. *Pitx2* transzkripciósfaktorhiányos egérben az emberben megfigyelhető heterotaxiának megfelelő szív-ér rendszer topográfia fejlődik [38]. Situs inversus és hypophysiselégtelenség együttes előfordulásáról azonban kevés adat ismert.

Kortoglu és Atabek 2003-ban, 6 éves situs inversusos leánygyermek esetét ismertették, akiben a lateralisatio zavarához brachydactylia, hypertrichosis és elégtelen GH-szekréció társult [39]. Egy másik közleményben a szerzők egy 39. gesztációs hétre született és 5 napos korban elhunyt újszülött esetéről számoltak be, akiben situs inversus, hypoglossia és agyalapimirigy-aplasia együttes előfordulását észlelték. A kórkép kialakulásában az anyai hyperthermia kóroki szerepét valószínűsítik [40]. *Giacchino és mtsai* egy veleszületett *Toxoplasma*-fertőzésben szenvedő 11 éves gyermekben situs inversus, vesefejlődési rendellenesség és GH-szekréció-zavarral járó hypopituitarismus társulásáról számoltak be [41].

A situs inversus totalis (a belső szervek tükörképszerű elhelyezkedése) becsült újszülöttkori előfordulási gyakorisága 1:6000–8000. Egyes szervek izolált lateralisációs zavarával szemben a situs inversus totalis nem társul szervi funkciózavarral. A situs inversus totalis esetek mintegy fele a Kartagener-szindróma részjelensége, amelyben a belső szervek tükörképszerű lokalizációja primer ciliaris dyskinesia társul [42, 43]. A primer ciliaris dyskinesia a csillók működészavara miatt változó súlyosságú ismétlődő felső és alsó légúti fertőzésekkel jár együtt. A szindróma genetikailag heterogén; a csillók strukturális és funkcionális rendellenességének hátterében a dynein kart felépítő fehérjék szerkezeti rendellenessége mutatható ki. A situs inversus ritkán egyéb örökletes szindrómákhoz is társulhat. A Bardet-Biedl-szindróma egyes formáiban az infantilis nephronophtisis, veseciszták és situs inversus fordulhat elő. Az X-kromoszómához kötött öröklődő situs inversus urogenitalis malformáció és imperforált anus jellemzi, a kórképben a *ZIC3* gén (Zic family member 3 heterotaxy 1) mutációját igazolták [44, 45, 46].

Munkámban 52 éves férfi beteg esetét ismertettem, akinél a situs inversus totalis veleszületett MPHD-vel társult. Az immuncitokémiai vizsgálat eredménye a

Kartagener-szindróma fennállását nem támasztotta alá. A jobbkezesesség és a funkcionális MR-vizsgálat bal agyfélteke-dominanciára utalt. Utóbbi megfigyelésem azt jelezte, hogy a betegben a szomatikus lateralisációs zavar nem járt együtt az agyi funkcionális lateralisatio megváltozásával. Ennek alapján feltételezhető, hogy az agy és a szomatikus lateralisatio kialakításában egymástól független folyamatok játszanak szerepet. Ezt a feltételezést korábban már mások is felvetették [47].

A situs inversus totalishoz társuló MPHD-ben a hypophysis fejlődésében és a lateralisációs zavarokban egyaránt jelentőséggel bíró *PITX2* génmutáció lehetséges szerepét a nemzetközi irodalomban még nem vizsgálták. E gén vizsgálatát különösen fontosá tette, hogy a betegben a *PROPI* és *POU1F1* gének kódoló régióiban nem találtam betegségkókozó mutációt. Ezért munkámban kidolgoztam a *PITX2* gén kódoló exonjainak nukleotidszekvencia-vizsgálatára alkalmas módszert, amely alkalmas a gén kódoló exonjain kívül az exon közeli intronikus szakaszokon előforduló mutációk kimutatására. Az általam kidolgozott módszert sikeresen alkalmaztam a *PITX2* gén kódoló exonjainak vizsgálatára, azonban a szekvenciaanalízissel nem sikerült eltérést kimutatnom. Ennek alapján a *PROPI* és *POU1F1* gének vizsgálatához hasonlóan a *PITX2* gén esetében sem bizonyítható, hogy a betegnél ezeknek a hypophysistranszkripció faktoroknak szerepe lehet a situs inversus totalissal társuló MPHD kialakulásában.

Következtetések

Hypophysishormon-hiányban szenvedő betegek klinikai adatainak elemzésével és a betegek vérmintáiban három hypophysistranszkripció faktor gén (*PROPI*, *POU1F1* és *PITX2*) mutációinak vizsgálatával foglalkozó munkám legjelentősebb megállapításait és az eredményekből levonható legfontosabb következtetéseket az alábbi pontok foglalják össze:

1. Megállapítottam, hogy a GH-hiányban szenvedő gyermekek kezelésére országosan szervezett keretek között elsőként rendelkezésre álló humán GH-készítmény (Gorm) tartós, 7 évnél hosszabb alkalmazását követően a betegek átlagos testmagassága a hazai kor- és nemspecifikus adatok szerinti normális tartományba került. A készítményt később rekombináns géntechnológiával előállított humán GH-készítmények váltották fel, amelyek alkalmazásakor az elsőként bevezetett humán GH-készítménnyel szerzett hosszú távú tapasztalatokat használták fel.

2. Veleszületett MPHD-ben szenvedő betegekben a betegségkókozó *PROPI* génmutációk szűrésére klinikai feltételrendszer dolgoztam ki, amelynek alapján 7 gyermek-, illetve felnőttendokrinológiai centrum közreműködésével 3 év alatt 32 családból 35 veleszületett MPHD-s beteget vontam be a vizsgálatba. Megállapítottam, hogy az általam kidolgozott feltételrendszer alkalmazása esetén a *PROPI* gén kódoló exonjainak

mutációvizsgálata hazai MPHD-betegekben kiemelkedően hatékony módszer az MPHD örökletes formáinak kimutatására. A vizsgált 35 MPHD-s beteg közül 15 betegben (43%) észlelt mutációkat (10 homozigóta és 5 compound heterozigóta) a nemzetközi irodalomban betegségkókozó mutációként tartják számon, a szakirodalomban nem közölt új mutációt nem találtam. Megállapítottam, hogy a mutáns allélok több mint 80%-át a 150delA és 301-302delGA mutációkat tartalmazó allélek tették ki. Ezek az eredmények hazai MPHD-s betegekben a *PROPI* gén mutációs „hot spotjának” kiemelkedő jelentőségét bizonyítják, és egyben lehetőséget nyújtanak az érintett betegekben a *PROPI* génmutáció-szűrés racionális és költséghatékony stratégiájának kidolgozására. Eredményeim alapján hazai MPHD-s betegekben a *PROPI* gén kódoló exonjainak mutációanalízise során elsőként a 150delA és 301-302delGA mutációs helyeket tartalmazó génszakaszok vizsgálatát javaslom.

3. *PROPI* génmutációt hordozó és nem hordozó veleszületett MPHD-ben szenvedő betegcsoportok klinikai és hormonlaboratóriumi adatainak összehasonlításával megállapítottam, hogy a *PROPI* génmutációt hordozó betegekben a GH-szekréció zavarát szignifikánsan korábbi életkorban diagnosztizálták, mint a mutációt nem hordozó betegekben, azonban a GH-hiány diagnózisának megállapításakor a növekedéslemeradás mértékében vagy a GH-hiányhoz társuló TSH-, LH-, FSH- és ACTH-hiány megjelenésének időpontjában sem találtam szignifikáns különbséget a két betegcsoport között. Ezeknek a megfigyeléseimnek alapján valószínűnek tartom, hogy a *PROPI* génmutáció következményeként kialakuló növekedéslemeradás korábbi életkorban válik feltűnővé, mint a *PROPI* génmutációt nem hordozó esetekben. Eredményeim alapján a *PROPI* génmutáció-vizsgálatot különösen indokoltnak tartom azoknál a gyermekeknél, akiknél a GH-hiányt fiatalabb életkorban állapítják meg.

4. *PROPI* génmutációt nem hordozó 15 veleszületett MPHD-s betegben a *POU1F1* gén mutációs „hot spotját” tartalmazó 6. exon mutációanalízisével nem találtam heterozigóta- vagy homozigótamutációt. Ezek a megfigyeléseim nem támasztják alá azt a lehetőséget, hogy hazai MPHD-s betegekben a *POU1F1* gén mutációs „hot spotjának” betegséggyakoriságot okozó szerepe lenne, bár a gén többi, általam nem vizsgált exonján mutációk jelenléte nem zárható ki.

5. Módszert dolgoztam ki a hypophysis fejlődésében és a lateralisációs zavarokban egyaránt jelentőséggel bíró *PITX2* gén kódoló exonjain és exon közeli intronikus szakaszain előforduló mutációk kimutatására. A módszert sikeresen alkalmaztam egy situs inversus totalishoz társuló MPHD-s betegben a gén nukleotidszekvenciájának vizsgálatára, amellyel azonban nem sikerült mutáció jelenlétét bizonyítanom. A betegnél a situs inversus totalis hátterében Kartagener-szindróma lehetőségét nem valószínűsítettem, és a

PROP1 és *POU1F1* gének összes kódoló exonjainak analizisével nem találtam betegségkókozó mutációt. A *PROP1*, *POU1F1* és *PITX2* gének mutációit situs inversussal társuló MPHD-ben a nemzetközi irodalomban még nem vizsgálták. Eredményeim nem bizonyítják, hogy e gének mutációinak szerepe lehet a situs inversus totalissal társuló MPHD kialakulásában.

Irodalom

- [1] Gács G.: A kóros növekedés és serdülés. Endokrin kórképek. In: Növekedés és serdülés. Szerk.: Gács G. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1984, 96–102.
- [2] Péter F., Kovács I., Szabó B.: Emberi növekedési hormonnal szerzett diagnosztikai és terápiás tapasztalataink. Gyermekgyógyászat, 1981, 21, 86–93.
- [3] Savage, J. J., Yaden, B. C., Kiratipranon, P. és mtsai: Transcript control during mammalian anterior pituitary development. Gene, 2003, 319, 1–19.
- [4] Reynaud, R., Saveanu, A., Barlier, A. és mtsai: Pituitary hormone deficiencies due to transcription factor gene alterations. Growth Horm. IGF Res., 2004, 14, 442–448.
- [5] Dattani, M. T., Martínez-Barbera, J. P., Thomas, P. Q. és mtsai: Mutations in the homeobox gene HESX1/Hesx1 associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. Nat. Genet., 1998, 19, 125–133.
- [6] Mullen, R. D., Colvin, S. C., Hunter, C. H. és mtsai: Roles of the LHX3 and LHX4 LIM-homeodomain factors in pituitary development. Mol. Cell. Endocrinol., 2007, 265–266, 190–195.
- [7] Halász Z., Gács G., Sólyom J. és mtsai: Hypopituitary nanosom betegek gyermekkori tartós Gorm-kezelésének értékelése az elért testmagasság tükrében. Gyermekgyógyászat, 1994, 5, 432–434.
- [8] Halász Z., Tőke, J., Patócs, A. és mtsai: High prevalence of *PROP1* gene mutations in Hungarian patients with childhood-onset combined anterior pituitary hormone deficiency. Endocrine, 2006, 30, 255–260.
- [9] Halász Z., Bertalan R., Tőke J. és mtsai: A többszörös hypophysishormon-hiány genetikai okai. A hypophysis transzkripció faktorok szerepe. Magy. Belorv. Arch., 2007, 60, 129–134.
- [10] Halász Z., Bertalan R., Tőke J. és mtsai: Laterality disturbance and hypopituitarism. A case report of co-existing situs inversus totalis and combined pituitary hormone deficiency. J. Endocrinol. Invest., 2009, 31, 74–78.
- [11] Raben, M. S.: Treatment of a pituitary dwarf with human growth hormone. J. Clin. Endocr., 1958, 18, 901–903.
- [12] Frasier, S. D.: Human pituitary growth hormone (hGH) therapy in growth hormone deficiency. Endocr. Rev., 1983, 4, 155–170.
- [13] Péter F., Kovács I., Szabó B.: Emberi növekedési hormonnal szerzett diagnosztikai és terápiás tapasztalataink. Gyermekgyógyászat, 1970, 21, 86–93.
- [14] Gács G.: Hypopituitarismus okozta törpenövés. Orv. Hetil., 1975, 116, 1038–1043.
- [15] Brown, P., Gajdusek, D. C., Gibbs, C. J.: Potential epidemic of Creutzfeldt–Jakob disease from human growth hormone therapy. N. Engl. J. Med., 1985, 313, 728–731.
- [16] Powell-Jackson, J., Kennedy, P., Withcombe, E. M. és mtsai: Creutzfeldt–Jakob disease after administration of human growth hormone. Lancet, 1985, 326, 244–246.
- [17] Hubina E., Csirják S., Görömbey Z. és mtsai: A felnőttkori növekedési hormon-pótló kezelés 10 éves hazai tapasztalatai. Magy. Belorv. Arch., 2006, 58, 342–349.
- [18] Fofanova, O., Takamura, N., Kinoshita, E. és mtsai: Compound heterozygous deletion of the *PROP-1* gene in children with combined pituitary hormone deficiency. J. Clin. Endocr. Metab., 1998, 83, 2601–2603.
- [19] Deladoëy, J., Flück, C., Büyükgebiz, A. és mtsai: "Hot spot" in the *PROP1* gene responsible for combined pituitary hormone deficiency. J. Clin. Endocr. Metab., 1999, 84, 1645–1650.
- [20] Mody, S., Brown, M. R., Parks, J. S.: The spectrum of hypopituitarism caused by *PROP1* mutations. Best Pract. Res. Clin. Endocr. Metab., 2002, 16, 421–431.
- [21] Lebl, J., Vosáblo, J., Pfäffle, R. W. és mtsai: Auxological and endocrine phenotype in a population-based cohort of patients with *PROP1* gene defects. Eur. J. Endocrinol., 2005, 153, 389–396.
- [22] Reynaud, R., Barlier, A., Vallette-Kasic, S. és mtsai: An uncommon phenotype with familial central hypogonadism caused by a novel *PROP1* gene mutant truncated in the transactivation domain. J. Clin. Endocr. Metab., 2005, 90, 4880–4887.
- [23] Vallette-Kasic, S., Barlier, A., Teinturier, C. és mtsai: *Prop1* gene screening in patients with multiple pituitary hormone deficiency reveals two sities of hypermutability and a high incidence of corticotroph deficiency. J. Clin. Endocr. Metab., 2001, 86, 4529–4535.
- [24] McLennan, K., Jeske, Y., Cotterill, A. és mtsai: Combined pituitary hormone deficiency in Australian children: clinical and genetic correlates. Clin. Endocrinol., 2003, 58, 785–794.
- [25] Tsumi, K., Kikuchi, K., Tsumura, K. és mtsai: A novel *PROP1* gene mutation (157delA) in Japanese siblings with combined anterior pituitary hormone deficiency. Clin. Endocrinol., 2004, 61, 635–640.
- [26] Rainbow, L., Rees, S. A., Shaikh, M. G. és mtsai: Mutation analysis of *POU1F1*, *PROP-1* and *HESX-1* show low frequency of mutations in children with sporadic forms of combined pituitary hormone deficiency and septo-optic dysplasia. Clin. Endocrinol., 2005, 62, 163–168.
- [27] Lemos, M. C., Gomes, L., Bastos, M. és mtsai: *PROP1* gene analysis in Portuguese patients with combined pituitary hormone deficiency. Clin. Endocrinol., 2006, 65, 479–485.
- [28] Flück, C., Deladoëy, J., Rutishauser, K. és mtsai: Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1* gene mutation resulting in the substitution of Arg → Cys at Codon 120 (R120C). J. Clin. Endocr. Metab., 1998, 83, 3727–3734.
- [29] Rosenbloom, A. L., Almonte, A. S., Brown, M. R. és mtsai: Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the *PROP1* gene. J. Clin. Endocr. Metab., 1999, 84, 50–57.
- [30] Parks, J. S., Brown, M. R., Hurley, D. L. és mtsai: Heritable disorders of pituitary development. J. Clin. Endocr. Metab., 1999, 84, 4362–4370.
- [31] Böttner, A., Keller, E., Kratzsch, J. és mtsai: *PROP1* mutations cause progressive deterioration of anterior pituitary function including adrenal insufficiency: A longitudinal analysis. J. Clin. Endocr. Metab., 2004, 89, 5256–5265.
- [32] Ward, R. D., Raetzman, L. T., Sub, H. és mtsai: Role of *PROP1* in the pituitary gland growth. Mol. Endocrinol., 2005, 19, 698–710.
- [33] Mendonça, B. B., Osorio, M. G. F., Latronico, A. C. és mtsai: Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301, G302 in the *PROP1* gene. J. Clin. Endocr. Metab., 1999, 84, 942–945.
- [34] Voutetakis, A., Argyropoulou, M., Sertadaki, A. és mtsai: Pituitary magnetic resonance imaging in 15 patients with *Prop1* gene mutations: pituitary enlargement may originate from the intermediate lobe. J. Clin. Endocr. Metab., 2004, 89, 2200–2206.
- [35] Simon, D., Hadjiathanasiou, C., Garel, C. és mtsai: Phenotypic variability in children with growth hormone deficiency associated with posterior pituitary ectopia. Clin. Endocrinol., 2006, 64, 416–422.
- [36] Reynaud, R., Gueydan, M., Saveanu, A. és mtsai: Genetic screening of combined pituitary hormone deficiency: experience in 195 patients. J. Clin. Endocr. Metab., 2006, 91, 3329–3336.

- [37] *Muncke, N., Niesler, B., Roeth, R. és mtsai*: Mutational analysis of the PITX2 coding region revealed no common cause for transposition of the great arteries (dTGA). *BMC Med. Genet.*, 2005, 6, 20.
- [38] *Franco, D., Campione, M., Kelly, R. és mtsai*: Multiple transcriptional domains, with distinct left and right components, in the atrial chambers of the developing heart. *Circ. Res.*, 2000, 87, 984–991.
- [39] *Kurtoglu, S., Atabek, M. E.*: Growth hormone deficiency, situs inversus, hypertrichosis and brachydactyly. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2003, 16, 795–798.
- [40] *Chabrolle, J. P., Labenne, M., Cailliez, D. és mtsai*: Hypoglossia, situs inversus and absence of the pituitary in the neonate: teratogenic effect of maternal hyperthermia? *Arch. Pediatr.*, 1998, 5, 163–166.
- [41] *Giacchino, M., Toso, P., Buzzzi, M. és mtsai*: Su di una rarissima associazione di processi morbosi. *Min. Ped.*, 1977, 29, 1879–1888.
- [42] *Kartagener, M., Horlacher, A.*: Situs viscerum inversus und polyposis nasi in einem Falle Familiarer Bronchiektasien. *Beitr. Klin. Tuberk.*, 1936, 87, 331–333.
- [43] *Afzelius, B. A.*: A human syndrome caused by immobile cilia. *Science*, 1976, 193, 317–319.
- [44] *Gebbia, M., Ferrero, G. B., Pilia, G. és mtsai*: X-linked situs abnormalities result from mutations in ZIC3. *Nat. Genet.*, 1997, 17, 305–308.
- [45] *Ansley, S. J., Badano, J. L., Blacquem, O. E. és mtsai*: Basal body dysfunction is a likely cause of pleiotropic Bardet–Biedl syndrome. *Nature*, 2003, 425, 628–633.
- [46] *Otto, E. A., Schermer, B., Obara, T. és mtsai*: Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat. Genet.*, 2003, 34, 413–420.
- [47] *Kennedy, D. N., O'Craven, K. M., Ticho, B. S. és mtsai*: Structural and functional brain asymmetries in human situs inversus totalis. *Neurology*, 1999, 53, 1260–1265.

(Halász Zita dr.,
Budapest, Bókay J. u. 53–54., 1083
e-mail: halaszszita@gmail.com)

Tisztelt Olvasónk!

Újítsa meg előfizetését változatlan áron 2011-re is!

Köszönjük, hogy figyelemmel kíséri az **Orvosi Hetilap**ban megjelenő közleményeket. Reméljük, hogy továbbra is olvasóink, előfizetőink táborában tudhatjuk.

| | |
|---|------------|
| A 2011. évi előfizetési díj egy évre: | 22 900 Ft, |
| fél évre: | 14 520 Ft, |
| negyed évre: | 9 160 Ft. |
| Nyugdíjas és ifjúsági (35 év alatti) kedvezmények: | |
| A 2011. évi előfizetési díj egy évre: | 16 030 Ft, |
| fél évre: | 10 140 Ft, |
| negyed évre: | 6 395 Ft. |
| Egyes lapszámok ára: 760 Ft | |

Az egyes lapszámok megvásárolhatók a **Mediprint Orvosi Könyvesboltban**.
1053 Budapest, Múzeum krt. 17. • Telefon: 317-4948

Az Orvosi Hetilap az alábbi elérhetőségeken rendelhető meg:
Akadémiai Kiadó Zrt. 1117 Budapest, Prielle Kornélia u. 19/d, Telefon: (06-1) 464-8240, kapcsolattartó: Gulyás Andrea,
E-mail: journals@akkrt.hu