

Méhes Károly

az MTA rendes tagja

RÉGI ÉS ÚJ MÓDSZEREK AZ ORVOSI GENETIKÁBAN

Elhangzott 1995. november 21-én

Az orvosi genetika jelentősége az elmúlt negyedszázadban hihetetlen gyorsasággal és mértékben növekedett. Ennek egyik oka az, hogy az emberi test felépítésének és működésének egyre több ép és kóros sajátosságáról derült ki, hogy azt részben vagy egészben örökletes tényezők határozzák meg. A másik és talán fontosabb ok az, hogy az orvosi genetika korszerű vizsgálómódszerei az orvosi és biológiai kutatás csaknem minden ágában tért hódítottak: ma a blotolási technikák, a polimeráz-láncreakció, a DNS-chip-analízis és más metodikák az immunfehérjék és a gyógyszerhatások elemzésében éppúgy elengedhetetlenek, mint a daganatképződés és az idegrendszer szerveződésének vizsgálatában. A szinte évente születő új módszerek megismerése és alkalmazása tehát minden kutató számára ajánlatossá, az orvosi genetikával foglalkozóknak pedig a napi munkában kikerülhetetlen rutinfeladatává vált.

Az orvosi genetika gyakorlatában a lelkesítő fejlődés mellett ez nem kevés gondot is jelent. A helyzet ugyanis az, hogy az új módszereket már nem lehet a napi orvosi munka mellett vagy után, tudományos „hobbiból” művelni, ezek többsége a korábbinál alaposabb laboratóriumi felkészülést és főleg sok időt kíván, más szóval egész embert igényel. Ezért aztán a genetikai tevékenység fokozatosan szétválik, vagy a legtöbb helyen már szét is vált: a beteggel és családjával az öröklődés iránt érdeklődő orvos, a tőlük vett vizsgálati anyaggal a

laboratóriumban tevékenykedő biológus, vegyész vagy más képzettségű szakember foglalkozik. Ennek az elkerülhetetlen folyamatnak két hátránya van:

1. A laboratóriumi lelet jelentőségének értékelésében csökken vagy elvész az élő és érző embernek és környezetének (családjának, terápiás és rehabilitációs lehetőségeinek stb.) a tanácsot és a tennivalókat nagyon is befolyásoló szerepe.

2. Az orvostanhallgatók és orvosi genetikusok képzésében érthető módon előtérbe kerül, sőt időhiány miatt egyeduralkodóvá válik a modern módszerek oktatása, mert ezek látszólag magasabb szintű diagnosztikát és kutatást tesznek lehetővé. Ennek megfelelően zsugorodik vagy elvész a régi módszerek tanítására fordított idő és energia. A következmény az, hogy a fiatal orvosok és PhD-hallgatók egyre nagyobb hányada már elemi szinten sem ismeri a hagyományos metodikákat, amelyek nélkül pedig az esetek nagy részében a legújabb módszerek sem hasznosíthatók. Ugyanakkor sok olyan terület van, ahol egy-egy kérdés tisztázására változatlanul csakis a régi metodikák alkalmasak. Az alábbiakban ennek igazolására mutatunk be néhány példát saját munkásságunkból.

A legrégebbi módszer: a hagyományos családfakutatás

A kínzó fájdalommal és vérveléssel járó vesekövesség családi halmozódása évszázadok óta ismert, öröklődését azonban meglepő módon egészen a közelmúltig nem kutatták tudományos alapossággal. Csak a hetvenes évek végén került sor arra, hogy egy amerikai munkacsoporttal párhuzamosan elemezzük a fokozott kalciumürítéssel járó húgykövesség familiáris előfordulását. A módszer mindkét felmérésben a családfák és ezen belül a normálisnál több kalciumot ürítők elemzése, vagyis a lehető legegyszerűbb családvizsgálat volt. *Coe és munkatársai* (4) kilenc családban nyert adatai és a magunk (20) tíz famíliában kapott leletei egymástól függetlenül arra utaltak, hogy az ún. idiopathiás hypercalciurián alapuló kőbetegség autosomális domináns módon öröklődik, vagy legalábbis van ilyen öröklődésű formája. *Szelid Zsolttal* végzett további vizsgálataink felvetették annak a gyanúját, hogy a renális hypercalciuriára jellemző az autosomális domináns átvitel, míg az absorptív típus inkább sporadikusan fordul elő (29). Bár egy-egy esetben recesszív öröklődés lehetősége is felmerül, *Harangi Ferenc*cel huszonegy családban végzett újabb felmérésünk adatai a renális típusban ismét domináns átvitelt igazoltak, míg az absorptív típusban inkább a környezeti tényezők, a szokásosnál nagyobb kalciumfogyasztás oki szerepe merült fel (7). A kérdés még ma sem tekinthető teljesen lezártnak (2), de az már biztosnak látszik, hogy az autosomális domináns öröklődés szerepet játszik a renális hypercalciuria és szövődményei, a gyakori urolithiasis és a ritkább nephrocalcinosis etiológiájában (5).

Ennek a génszintű feltárása érdekében ígéretes együttműködésünk alakult ki egy német és egy holland munkacsoporttal, de a vizsgálatok alapja ma is a klasszikus családfakutatás. Amint ebben a példában, úgy az öröklődés tényének felvetésében és az öröklésment megközelítésében más esetekben is csak az évezredes hagyományú családvizsgálat révén juthatunk el a molekuláris genetikai tisztázáshoz, csak a hozzátartozók fenotípusa mutathatja meg, hogy kikben érdemes elvégezni a bonyolult és költséges DNS-analíziseket.

Klinikai dysmorphologia

Minden orvosi vizsgálat alapvető része a gondos, egész testre kiterjedő fizikális vizsgálat. Így van ez az orvosi genetikában is; a panaszok és a családi előzmények figyelembevételén túl feltétlenül tájékozódni kell a beteg által esetleg észre sem vett szomatikus eltérésekről. Szakzsargonban szólva azt is mondhatjuk, hogy a fenotípus minden, a panaszokkal és az előzményekkel látszólag nem összefüggő sajátosságát is regisztrálni kell, mert soha nem tudhatjuk, hogy ezeknek később milyen jelentősége lesz. Különösen érdekes lehet minden olyan jel, tünet, amelynek kialakulása a születés előtt, a magzati életben történt. Ilyenek a kis fejlődési rendellenességek és extrém alkati variánsok. Ezek a dysmorphiás jeleknek, minor anomáliáknak, informatív morphogenetikai variánsoknak, vagy újabban a morphogenesis kis zavarainak nevezett testi jellegzetességek a szokásostól eltérő, önmagukban ártalmatlan alkati „hibák”, amelyek működési zavart és kozmetikai panaszt nem okoznak. Egy részük valódi fejlődési rendellenesség, mint például a hasadt uvula vagy a számféletti hajforgó, másik részük az organogenezis után létrejött kvantitatív jelleg, mint a túl hosszú vagy túl rövid philtrum, a kicsiny vagy nagy és elálló fülek. Bár egyedi jelentőségük más és más, közös jellemvonásuk az, hogy mind a magzati életben jöttek létre. Ez a gyakorlatban két téren hasznosítható:

1. Jelenlétük felhívhatja a figyelmet egyes egyidejűleg kialakult, az addigi vizsgálatokkal fel nem fedezett, súlyos belső szervi rendellenességekre, egyben támpontot ad a többszörös fejlődési hibákkal járó szindrómák azonosításához.

2. Halmozott előfordulásuk a társult betegségek, anomáliák prenatalis eredetére utalhat.

A kis alkati rendellenességek jelentőségéről, diagnosztikus hasznáról, értékelésük kritikájáról több kitűnő összefoglaló jelent meg (1, 6, 27, 28), a kérdéssel saját hazai vizsgálatok alapján két kismonográfiában magunk is foglalkoztunk (14, 15). E helyen csak a minor anomáliák és a daganatok, valamint egyes központi idegrendszeri betegségek kapcsolatát említjük meg.

A familiáris, valamint a congenitálisnak tartott gyermekkori daganatok és veleszületett fejlődési rendellenességek kapcsolata régóta vitatott kérdés. Több,

nagy anyagot feldolgozó epidemiológiai tanulmány alapján úgy látszik, hogy a nagy malformatiók gyakorisága tumoros gyermekekben és családtagjaikban nem nagyobb az átlagosnál. Ugyanakkor több egyedi megfigyelés után 1985-ben svájci családokban a tumoros gyermekekben és egészséges testvéreikben a kontrollokénál több minor anomáliát találtunk (21). A vizsgálatot 1995-ben magyar és német együttműködésben megismételtük, és a malignitással kezeltékben, valamint testvéreikben a kis rendellenességek nagyobb prevalenciáját igazoltuk (25). Mivel a szülőkben az előfordulás a kontrollokéval megegyezően alacsony volt, felvetettük egy esetleges recesszíven öröklődő predispositio lehetőségét, de ennek kimondásához még további vizsgálatok szükségesek.

Joggal merül fel a kérdés, hogy ebből a szempontból egyes egyedi minor anomáliák lehetnek-e kórjelző értékűek. Még 1979-ben hívtuk fel a figyelmet a számfeletti emlőbimbó és a vese, illetve a húgyutak fejlődési rendellenességeinek összefüggésére (13). Ez a „mezodefektusnak” imponáló kapcsolat később sok vita tárgyát képezte; diagnosztikai és etnikai különbségek miatt a kérdés ma is ellentmondásosnak tekinthető (32). Ugyanakkor egy másik tanulmányunkban urogenitális rák miatt kezelt felnőttekben is a járulékos emlőbimbó szignifikánsan gyakoribb előfordulását észleltük (22). Legújabban alkalmunk volt egy olyan család feltérképezésére, amelyben egyidejűleg a számfeletti emlőbimbó, a vesék fejlődési anomáliája és papilláris veserák halmozott előfordulása volt kimutatható (19). Saját laboratóriumunkban és külföldi kollaborációval kísérletet tettünk a család molekuláris genetikai elemzésére, de ez egyelőre nem járt sikerrel. Ennek ellenére megfigyelésünk valószínűvé teszi, hogy egyes minor és major anomáliák, valamint daganatok közös eredetre vezethetők vissza. Ez lehet genetikai vagy teratológiai természetű, aminek tisztázása még nem történt meg, de ez nem von le annak értékéből, hogy a kérdés felvetésében döntő szerepet játszott egy egyszerű fizikális vizsgálattal felismerhető kicsiny morfológiai eltérés.

Hasonló a helyzet egyes mentális kórképek esetében is. Ismeretes, hogy a fejlődési rendellenességekkel járó szindrómák többségében az értelmi fejlődés elmaradásával is számolni kell. Ha azonban nincsenek valamely szindrómára jellemző jegyek, nehezen dönthető el, hogy a szellemi károsodás mikor keletkezhetett. Általános tapasztalat és elfogadott elv az, hogy amennyiben ilyen esetben több minor anomália található, akkor ez a prenatális eredet indikátoraként értékelhető. A kérdéssel korábban magunk is foglalkoztunk (11). Az 1978–1979-ben ilyen célból vizsgált, mentálisan retardált gyermekek egy részében nem volt pontos diagnózis; ezekben az „idiopathiás” esetekben a kis rendellenességek átlaga a bizonyítottan genetikus/prenatalis és az exogén csoporté között volt. Későbbi, fejlettebb módszerekkel történt vizsgálataink során,

1985–1987-ben, az immár idősebb gyermekek prenatalisnak bizonyult részében a minor anomáliák nagyobb gyakoriságát, néhány exogénnek tartott esetben kisebb prevalenciát találtunk. Az „idiopathiás” csoport tehát a várakozásnak megfelelően pre- és postnatalis esetek keveréke volt, ez indirekt módon ismét csak azt igazolta, hogy a minor rendellenességek alkalmasak a társult betegség prenatalis eredetének becslésére. Újabban hasonló tapasztalatot szereztünk schizophren betegek egy csoportjában is (31); a pszichiatriai kórképek kutatásában az eddig kevésbé értékelt kis alkati anomáliák és variánsok elemzése, beleértve a bőrlécrajzolat változatait is, ígéretes és igen népszerű módszerré vált.

A klinikai dysmorphologia és ezen belül a morfogenezis kis zavarainak a vizsgálata tehát szintén olyan egyszerű, régi módszer, amely segít a bonyolultabb eljárásokra történő szelektálásban, gondolatokat ébreszt a további kivizsgálás tervezésében, sőt a syndromológiában egyes esetekben önmagában is definitív diagnózishoz vezethet, ezért elengedhetetlen az orvosi genetikai gyakorlatban és kutatásban.

A hagyományos cytogenetika jelentősége

A klinikai rutin diagnosztikában négy évtizede gyakorolt kromoszómvizsgálat a sávfestésekkel nem észrevehető, finomabb rendellenességek felismerésére nem alkalmas. Ezért ezt a módszert ma már csak a számbeli aberrációk kimutatására javasolják, a strukturális hibák azonosítására ezen túlmenően a molekuláris cytogenetikai módszereket ajánlják, élükön a *fluoreszcens in situ hybridatio* (FISH) különböző változataival. Ez kétségtelenül jogos igény, de bizonyos esetekben a diagnosztika és a kutatás is haszonnal alkalmazhatja a régimódi karyotipizálást. Ilyen mindenekelőtt a kromoszóma-instabilitás vizsgálata.

A különböző mutagenitási, genotoxikológiai elemzésekben ma is az a leggyakrabban feltett kérdés, hogy a gyanúba vett ágens (sugárzás, vegyszer, vírus stb.) károsítja-e a kromoszómákat (30). Erre leginkább a kromoszómák strukturális rendellenességeinek, főleg a festődési folytonossághiányoknak (gap) és a töréseknek a számából lehet következtetni, ezek viszont a legkönnyebben és leginkább objektívan a legrégebb, mondhatni legkezdetlegesebb, sávozás nélkül festett készítményekben vizsgálhatók. A kromoszómakárosodás minél pontosabb és sokoldalúbb meghatározására természetesen más módszereket is kidolgoztak, magunk a centromérák szétválási sorrendjének az ugyancsak egyszerű, sávozatlan preparátumokból értékelhető változását találtuk kromoszóma-instabilitásra utaló jelnek.

Mintegy harminc éve figyeltünk fel arra, hogy sejtsztódáskor az ember 46 kromoszómájának centromérái és ennek megfelelően testvérkromatidái nem

egy időben, egyszerre válnak szét, hanem meghatározott sorrendet követnek. Így a szeparációs sorrend élén a 18. és 2. kromoszóma áll, ezeket követi az 5., 12. és az X kromoszóma, késői szétváló az 1., 7., 8., 11. és 16. kromoszómapár, míg a sort az akrocentrikusok zárják. Ez a szétválási sorrend az emberi fajra jellemző, minden sejtünkben egyformán alakul, és ezért megváltozása feltétlenül kórosnak tekintendő. Felvetettük annak lehetőségét is, hogy a sorrendnek a szülőben történő változása a csírasejtek hibás sejtosztódását és ezáltal az utód kromoszóma-rendellenességét okozhatja (12). Amint arról 1992-ben összefoglaló áttekintést adtunk (16), eredményeinket és feltevésünket több laboratórium vizsgálata is igazolták, és több újabb molekulárgenetikai megfigyelés is korábbi hipotézisünket látszik alátámasztani (9).

Az elmúlt öt évben mutattuk ki, hogy a szétválási sorrend felborulása, és különösen az egyébként igen későn szeparálódó nagy akrocentrikus D (13–15) kromoszómák korai szétválása, viszonylag gyakori jelenség olyan állapotokban, amelyekben kromoszóma törésekkel jellemezhető kromoszóma-instabilitás és egyben rosszindulatú daganatokra, leukaemiára való hajlam áll fenn. Így szignifikánsan több sok kromoszómát, ill. D-kromoszómát érintő, idő előtti szétválást (premature centromere division – PCD) írtunk le veleszületett immunhiányos gyermekekben (23), valamint Fanconi-anaemiás és ataxia-teleangiectasiás betegekben (24). Úgy találtuk, hogy egyes esetekben a PCD a törésnél érzékenyebb, azt sokszor meg is előző jele az instabilitásnak, ezért joggal gondoltunk arra, hogy a jelenség, különösen bleomycinnel, diepoxybutánnal vagy methotrexattal indukált törékenység, instabilitás esetében általában is alkalmazható lehet a latens kromoszómakárosodás kimutatására. A PCD-k regisztrálását a korábbi módszerek kiegészítéseként használtuk az esetleges rejtett instabilitás kutatásában (3, 26), de tudomásunk van arról, hogy már mások is bevezették ilyen célú alkalmazását (10).

A fenti példa talán elég annak igazolására, hogy a legrégebb és sok szempontból valóban elavult, sávozás nélküli kromoszóma-vizsgálat a maga helyén továbbra is hasznos, mással nem pótolható módszer maradt.

Összefoglalóan azt mondhatjuk, hogy a humán genetikai új módszereinek térhódítása soha nem remélt fejlődést hozott az emberi öröklődés tisztázásában, a genetikai betegségek diagnosztikájában, pathomechanizmusuk feltárásában és sok esetben már a megelőzésben is. Ezeket a metodikákat megismerni minden orvosnak, gyakorolni minden orvosi genetikai műhelynek kötelessége. Erre magunk is törekszünk, amit talán igazol e helyen nem részletezett munkásságunk, különös tekintettel néhány gyakoribb öröklődő betegség hazai epidemiológiájának génszintű vizsgálatára, számos szindróma DNS-diagnosztikájára és a mitochondriális DNS mutációinak elemzésére.

Ugyanakkor arra is törekednünk kell, hogy változatlanul komolyan vegyük a hagyományos, régi módszereket. Ezek mellőzése ugyanis két súlyos következménnyel járhat:

1. Helytelen és/vagy elégtelen kiválasztás miatt feleslegesen végezhetünk bonyolult, időigényes és költséges eljárásokat, mialatt az ilyenre rászorulóknak nem részesülnek a kívánatos vizsgálatokban.

2. Az új molekuláris genetikai módszerek nem kapnak támpontokat a további fejlődéshez: ha a régi módszerekkel felfedezett kromoszóma-töréspontok, markertulajdonságok, genotípus-fenotípus összefüggések stb. nem „irányítják” az új metodikákat, azok haladása lényegesen lelassul vagy esetenként meg is torpan.

Mindezek, korábban már kifejtett álláspontunknak megfelelően (17, 18), arra kell ösztönözzenek, hogy a régi és új módszereket egyenlő súllyal műveljük és főleg oktassuk. A mégoly lenyűgöző modern metodikák sem szabad hogy felmentsenek a családi előzmények hagyományos elemzése, a fizikális vizsgálatok és a saját szemmel, kézzel, füllel észlelt pontos regisztrálása, a testméretek meghatározása és a klasszikus genetikai, cytogenetikai módszerek alkalmazása alól. Ezek gyakorlása révén a szakmai hasznon túl azt is elmondhatjuk, hogy nemcsak egy sejttel, molekulával, bázispárral, hanem az egész emberrel, családdal is foglalkoztunk.

Irodalom

1. Aase, J. M.: *Diagnostic dysmorphology*. Plenum, New York–London, 1990. 33–252.
2. Aladjem M., Barr J., Kahat E, Bistrizter T.: Renal and absorptive hypercalciuria: a metabolic disturbance with varying and interchanging modes of expression. *Pediatrics*, 1996. 97:216–219.
3. Bajnóczky, K., Khezri, S., Kajtár, P., Szűcs, R., Kosztolányi, G., Méhes, K.: No chromosomal instability in offspring of survivors of childhood malignancy. *Cancer Genet Cytogenet*, 1999. 109:79–80.
4. Coe F. L., Parks J. H., Moore E. S.: Familial idiopathic hypercalciuria. *New Engl. J. Med.*, 1979. 300:337–340.
5. Eggert, P., Müller, D., Schröter, T.: Nephrocalcionosis in three siblings with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr. Nephrol*, 1998. 12:144–146.
6. Frias J. L., Carey J. C.: Mild errors of morphogenesis. *Adv. Pediatr.*, 1996. 43:27–75.
7. Harangi, F., Méhes, K.: Family investigations in idiopathic hypercalciuria. *Eur. J. Pediatr.*, 1993. 152:64–68.
8. Leppig K. A., Werler M. M., Cann C. I., Cook C. A., Holmes L. B.: Predictive value of minor anomalies. I. Association with major malformations. *J. Pediatr.*, 1987. 110:531–537.
9. Litmanovich T., Altaras M. M., Dotan A., Avivi I.: Asynchronous replication of homologous α -satellite DNA loci in man is associated with nondisjunction. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 1998. 81:26–35.

10. Major J., Tompa A.: személyes közlés, 1997.
11. Meggyessy, V., Révhelyi, M., Méhes, K.: Minor malformations in mental retardation of various aetiology. *Acta Paediatr. Acad. Sci. Hung.*, 1980. 21:139–143.
12. Méhes, K.: Non-random centromere division: A mechanism of non-disjunction causing aneuploidy? *Hum. Hered.*, 1978. 28:255–260.
13. Méhes, K.: Association of supernumerary nipples with other anomalies. *J. Pediatr.*, 1979. 95:274–275.
14. Méhes, K.: *Minor malformations in the neonate*. Akadémiai Kiadó, Bp., 198. 128 p.
15. Méhes, K.: *Informative morphogenetic variants in the newborn infant*. Akadémiai Kiadó, Bp., 1988. 229 p.
16. Méhes K.: *A centroméraszétválás sorrendje*. (Értekezések, emlékezések.) Akadémiai Kiadó, Bp. 1992. 31 p.
17. Méhes K.: Genetika az orvosi gyakorlatban. *Magyar Tudomány*, 1994. 39:257–272.
18. Méhes K.: Classical clinical genetics in the era of molecular genetics. (Invited editorial.) *Am. J. Med. Genet.*, 1996. 61:394–395.
19. Méhes, K.: Familial association of supernumerary nipple with renal cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1996. 86:129–130.
20. Méhes, K., Szelid, Zs.: Autosomal dominant inheritance of hypercalciuria. *Eur. J. Pediatr.*, 1980. 133:239–242.
21. Méhes, K., Signer, E., Plüss, A. J., Müller, H. J., Stalder, G.: Increased prevalence of minor anomalies in childhood malignancy. *Eur. J. Pediatr.*, 1985. 144:243–249.
22. Méhes, K., Szüle E., Törzsök, F., Meggyessy, V.: Supernumerary nipple and urologic malignancies. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1987. 24:185–188.
23. Méhes, K., Gyurkovits, K., Kosztolányi, G., Tárnok, A.: Frühzeitige Zentromertrennung bei Kindern mit Immundefizienz (abstract). *Monatsschr. Kinderheilk.*, 1993. 141:155.
24. Méhes K., Bühler, E. M.: Premature centromere division: A possible manifestation of chromosome instability. *Am. J. Med. Genet.*, 1995. 56:76–79.
25. Méhes, K., Kajtár, P., Sándor, G., Scheel-Walter, M., Niethammer, D.: Excess of mild errors of morphogenesis in childhood lymphoblastic leukemia. *Am. J. Med. Genet.*, 1998. 75:22–27.
26. Méhes, K., Bajnóczky, K., Adamovich, K., Khezri S., Kosztolányi, G.: No latent chromosome damage in oxygen-exposed premature neonates. *J. Hum. Genet.*, 1999. 44:40–42.
27. Merlob, P.: Mild errors of morphogenesis: one of the most controversial subjects in dysmorphology. In: Kalter H.(Ed.): *Issues and Reviews in Teratology*. Plenum, New York, 1994. 7, 57–102.
28. Pinsky, L.: Informative morphogenetic variants. Minor congenital anomalies revisited. In: Kalter, H.(Ed.): *Issues and Reviews in Teratology*. Plenum, New York, 1985. 3, 135–170.
29. Szelid, Zs., Méhes, K.: „Idiopathic” hypercalciuria: A renal form in inherited cases and an absorptive one in sporadic cases? (Letter.) *Eur. J. Pediatr.*, 1982. 138:88.
30. Tompa A., Major J.: Genotoxikológia. In: Papp Z.(szerk.): *Klinikai genetika*. Golden Book Kiadó, Bp., 1995. 141–156.
31. Trixler, M., Tényi, T., Csábi, G., Szabó, G., Méhes, K.: Informative morphogenetic variants in patients with schizophrenia and alcohol-dependent patients: beyond the Waldrop scale. *Am. J. Psychiat.*, 1997. 154:691–693.
32. Urbani, C. E., Betti, R.: *Accessory mammary tissue in clinical practice*. McGraw-Hill–Libri Italia, Milano–New York, 1996. 45–55.