

## Fakomatozy – znaczenie badań genetycznych dla personalizacji postępowania klinicznego (część 2)

Anna Kofla-Dłubacz<sup>1</sup>, Andrzej Stawarski<sup>1</sup>, Tomasz Pytrus<sup>1</sup>, Justyna Gil<sup>2</sup>

<sup>1</sup>II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Genetyki, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Choroba von Hippel i Lindau (VHL) oraz stwardnienie guzowate są rzadko występującymi schorzeniami uwarunkowanymi genetycznie, należącymi do grupy fakomatoz. W ich przebiegu występuje zwiększone ryzyko rozwoju mnogich nowotworów, głównie o charakterze łagodnym, które mogą ulegać transformacji do formy złośliwej. Diagnostyka genetyczna obejmująca identyfikację wariantu patogennego genów *VHL* i *TSC1* oraz *TSC2* umożliwia optymalizację opieki nad pacjentami oraz typowanie krewnych obciążonych mutacją.

**Słowa kluczowe:** choroba von Hippel i Lindau, VHL, stwardnienie guzowate, *sclerosis tuberosa complex*, *TSC*, fakomatozy

### Choroba von Hippel i Lindau

Choroba von Hippel i Lindau (*Von Hippel-Lindau disease* – VHL, OMIM 193300) zawdzięcza nazwę niemieckiemu okuliście Eugenowi von Hippel oraz szwedzkiemu patologowi Arvidowi Lindau, którzy w latach 1904 i 1926 niezależnie od siebie opisali zespoły kliniczne charakteryzujące się występowaniem guzów siatkówki i ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [1]. VHL jest zespołem uwarunkowanym genetycznie, predysponującym do rozwoju nowotworów, który dziedziczony jest w sposób autosomalny dominujący z niemal pełną penetracją. U około 20% chorych mutacja powstaje *de novo*, ale nosiciel przekazuje zmiany potomstwu (50% ryzyka przekazania mutacji). W kolejnych pokoleniach obserwowany jest cięższy przebieg choroby oraz jej wcześniejsze wystąpienie, tzw. antycypacja genetyczna [2]. Schorzenie rozpoznawane jest u 1 osoby na 38–91 000, a zapadalność wynosi 1 na 36–45 000 urodzeń [1]. Pierwsze objawy pojawiają się już w drugiej dekadzie życia, kryteria rozpoznania spełnione są u wszystkich pacjentów przed ukończeniem 70. roku życia [1]. Po rozpoznaniu zespołu VHL konieczny jest stały nadzór nad pacjentem.

Dzięki temu można wcześniej wykryć nowotwory i podjąć właściwe leczenie. Pomimo to spodziewana długość życia osób obciążonych VHL jest najkrótsza wśród obciążonych innymi dziedzicznymi zespołami zwiększonego ryzyka zachorowania na chorobę nowotworową [3].

W przebiegu tego zespołu dochodzi do tworzenia mnogich guzów o charakterze łagodnym i złośliwym w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, oka, narządów wewnętrznych – ze szczególnym uwzględnieniem nerek, trzustki i nadnerczy [4].

Hemangioblastoma (naczyniaki zarodkowe) OUN są często pierwszym objawem choroby i występują u 72–75% pacjentów [1]. Mogą lokalizować się w mózdzku (*hemangioblastoma cerebelli*), w rdzeniu przedłużonym (*hemangioblastoma medullae oblongatae*) lub w rdzeniu kręgowym (*hematoblastoma medullae spinalis*). W zależności od lokalizacji i wielkości prowadzą do różnorodnych objawów klinicznych. Efekt masy guzów zlokalizowanych wewnątrzczaszkowo może prowadzić do wzrostu ciśnienia śródczaszkowego objawiającego się nudnościami, wymiotami, przemieszczeniem struktur mózgowia z wklonowa-

#### Jak cytować / How to cite:

Kofla-Dłubacz A, Stawarski A, Pytrus T, Gil J. *Phacomatoses, genetic testing for personalisation of clinical management (part 2)*. NOWOTWORY J Oncol 2022; 72: 58–64.

niem prowadzącym do zgonu. W przypadku guzów o mniejszych rozmiarach mogą występować objawy ogniskowe, bóle głowy, bądź objawy asymptomatyczne. Lokalizacja mózdkowa powoduje wystąpienie zaburzeń równowagi, które spotykane są również w przypadku guza worka endolimfatycznego (*endolymphatic sac tumors* – ELST), obserwowanego u ok. 15% chorych z VHL. Guz ten charakteryzuje się miejscową złośliwością. Gdy się powiększa, niszczy struktury ucha wewnętrznego, piramidę kości skroniowej, może naciekać również nerwy czaszkowe (twarzowy i przedstonkowo-ślizkowy). Rozrastając się w kierunku mózdku, prowadzi do zespołu kąta mostkowo-mózdkowego. Wśród objawów typowych wymienić należy całkowitą lub częściową utratę słuchu występującą u 95–100% pacjentów, szumy uszne u 77% pacjentów, zaburzenia równowagi pochodzenia przedstonkowego – u 62% pacjentów i porażenie nerwu twarzowego – u 8% pacjentów [1, 5]. Leczenie hemangioblastoma OUN, jak również ELST, jest głównie chirurgiczne i zależy od lokalizacji oraz rozmiarów guza i ewentualnego naciekania sąsiednich struktur anatomicznych.

Hemangioblastoma siatkówki (naczyniak włóscinkowy siatkówki, naczyniak krwionośny zarodkowy) opisywane są u 50–60% chorych z VHL [6]. W badaniu okulistycznym stwierdza się ostro odgranicozoną pomarańczowo-czerwoną zmianę bogato unaczynioną, z wysiękiem śród- i podsiatkówkowym. Zmiany lokalizują się w części okołotarczowej lub na obwodzie siatkówki (obszar górno- lub dolnoskroniowy). U około 25% chorych dochodzi do trwałej utraty widzenia, a wystąpienie zmian mnogich predysponuje do tworzenia kolejnych ognisk [7].

Pacjenci z rozpoznaniem VHL wymagają stałego nadzoru okulistycznego z uwzględnieniem angiografii fluoresceinowej (odróżnienie tętniczek odżywczych od żyłek odprowadzających), badania ultrasonograficznego (określenie średnicy guza, uwidocznienie płynu), optycznej tomografii koherentnej (*optical coherent tomography* – OCT) (ustalenie miejsca gromadzenia płynu podsiatkówkowego). W ramach leczenia stosuje się fotokoagulację laserową, krioterapię, terapię fotodynamiczną, techniki chirurgii wiroretinalnej. W ramach farmakoterapii podejmowane są próby podawania antagonistów czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) – w przypadku naczynek tylnego bieguna [1, 7].

Rak nerkowokomórkowy (*renal-cell carcinoma* – RCC) występuje u ok. 30% chorych z VHL, wywodzi się z nabłonka kanalików nerkowych. Histologicznie ma najczęściej postać raka jasnokomórkowego, różni się od postaci występującej sporadycznie wieloogniskową manifestacją oraz współwystępowaniem torbieli (cyst) nerkowych. Może tworzyć się obustronnie [1, 8]. Objawy kliniczne w postaci wyczuwalnej masy guza, bólu okolicy lędźwiowej oraz krwiomoczu występują w przypadku guzów dużych (triada Virchowa). Nowotwory mniejszych rozmiarów pozostają bezobjawowe i wykrywane są w trakcie przesiewowych badań obrazowych. Możliwe jest także wystąpienie tzw. objawów paranowotworowych z hiperkalcemią związaną z wydzielaniem peptydu PTH-podobnego

(PTHrP), nadciśnieniem tętniczym, spowodowanym produkcją reniny przez komórki guza czy poliglobulię – występującą w efekcie uwalniania z nich erytropoetyny [9].

Podstawowymi metodami diagnostycznymi są tomografia komputerowa oraz rezonans magnetyczny. Rozpoznania histologicznego dokonuje się po pobraniu fragmentu guza drogą biopsji nerki lub w trakcie nefrektomii, która należy do podstawowych metod terapeutycznych RCC. Leczenie chirurgiczne w przypadku guzów małych (poniżej 3 cm) polega na usunięciu masy guza z marginesem zdrowej nerki. W ramach farmakoterapii, w stadium zaawansowanym nowotworu, podejmowane są próby leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej, które blokują angiogenezę i kinazę mTOR. Stosowana jest także immunoterapia interferonem alfa.

Guz chromochłonny (*pheochromocytoma*) występuje u ok. 16% pacjentów [1]. Jest to guz wydzielający katecholaminy, zazwyczaj łagodny, lokalizujący się w przebiegu VHL głównie w nadnerczach, często obustronnie, może przyjmować postać wieloogniskową. Podobnie jak w postaci sporadycznej, głównym objawem klinicznym jest nadciśnienie tętnicze (napadowe bądź utrwalone), któremu mogą towarzyszyć bóle głowy, wzmożona potliwość. Obserwowane jest napadowe blednięcie powłok skórnych, uczucie niepokoju, drżenia, zaburzenia rytmu serca w postaci tachykardii, migotania przedsionków czy dodatkowych pobudzeń komorowych, które mogą być przyczyną nagłego zgonu sercowego lub przewlekłej choroby serca – kardiomiopatii z rozwojem zastoiny w krążeniu płucnym.

W ramach diagnostyki oznacza się wolne katecholaminy lub ich metabolity (kwas wanilinomigdałowy – VMA, metoksykatecholaminy) w dobowej zbiórce moczu. Metoksykatecholamina może być również oznaczona w surowicy. W celu określenia lokalizacji guza wykonywane jest badanie tomografii komputerowej lub rezonans magnetyczny, ewentualnie scyntygrafia z użyciem m-jodobenzylguanidyny znakowanej jodem (MIBG), która jest szczególnie przydatna w rozpoznawaniu zmian małych i przerzutów [1]. Metodą przesiewową stosowaną do wykrywania guzów o typie *pheochromocytoma* jest również USG jamy brzusznej.

Leczenie guzów chromochłonnych obejmuje resekcję chirurgiczną (adrenalectomia całkowita bądź oszczędzająca) po przygotowaniu farmakologicznym, w ramach którego należy znormalizować ciśnienie tętnicze krwi oraz akcję serca. W tym celu stosowane są alfa blokery – lekiem podstawowym jest fenoksybenzamina stosowana przez 2 tygodnie przed planowanym zabiegiem operacyjnym. Terapię alfa blokerami można uzupełnić lekami blokującymi receptory beta, szczególnie u osób ze współistniejącą tachykardią. Beta blokery nie mogą być stosowane w monoterapii [1]. Pacjenci po zabiegu usunięcia guza chromochłonnego wymagają stałego nadzoru w celu wczesnego wykrycia ewentualnej wznowy nowotworu.

Z kolei zmiany w obrębie trzustki mają charakter torbieli (cyst) lub łagodnych nowotworów torbielowatych (*cystadenomas*) i występują u dużej części pacjentów z chorobą VHL

– 72% [1]. Mogą pozostawać bezobjawowe lub – powodując ucisk – wpływać na wydolność edno- i egzokrynną trzustki. W przebiegu VHL wystąpić mogą również guzy neuroendokryne trzustki (*pancreatic neuroendocrine tumor* – PNET).

Wielonarządowa manifestacja choroby VHL i związana z tym mnogość możliwych objawów klinicznych wymagają wielospecjalistycznego nadzoru oraz doboru leczenia zgodnego z typem zmian u pacjenta. Zasadniczo wyróżnić można dwa typy podstawowe schorzenia: 1 i 2. W typie 2 wyróżnia się podtypy a, b, c [10]. Kryteria diagnostyczne obejmują analizę kliniczną u pacjenta ze stwierdzonym współwystępowaniem mnogich ognisk nowotworowych [1]. Do ustalenia rozpoznania wymagane jest wykrycie:

- przynajmniej dwóch guzów o typie naczyniaka zarodkowego centralnego układu nerwowego (*central nervous system hemangioblastomas*),
- przynajmniej jednego naczyniaka zarodkowego ośrodkowego układu nerwowego i jednego z guzów nowotworowych opisanych poniżej,
- przynajmniej jednego z guzów opisanych poniżej oraz wykrycie mutacji typowej dla VHL lub obecność krewnego pierwszego stopnia z rozpoznaniem VHL.

Typowe objawy VHL ujęte w kryteriach diagnostycznych obejmują:

- nerwiaka zarodkowego OUN (w tym stwierdzenie hemangioblastomy siatkówki), (*hemangioblastoma of central nervous system, including retinal hemangioblastoma*),
- guza worka endolimfatycznego (*endolymphatic sac tumors*),
- raka nerkowokomórkowego (*renal-cell carcinoma*),
- guza chromochłonnego (*pheochromocytoma*),
- przyzwojaka (*paraganglioma, glomus tumor*),
- guzy neuroendokryne i/lub liczne cysty trzustki.

Podczas badań okresowych u pacjentów z rozpoznaniem VHL potwierdzonym wynikiem testu genetycznego należy wykonywać:

- w wieku 0–2 lata – coroczne badanie fizykalne i okulistyczne,
- w wieku od 2 lat – badanie MR mózgowia i rdzenia kręgowego – 2 razy w roku; badanie USG jamy brzusznej – co roku; jeżeli zostaną stwierdzone torbiele lub guzy – badanie tomografii komputerowej (TK) – co 6 miesięcy,
- w wieku od 20 lat – coroczne badanie TK zamiast corocznego badania USG,
- w wieku od 60 lat – tomografia komputerowa w każdym roku, w którym nie było MRI; w przypadku braku objawów badanie MRI – co 3–5 lat [11].

### **Podłoże genetyczne, diagnostyka i poradnictwo genetyczne**

Mutacje w genie supresorowym *VHL* stanowią podstawę molekularną rozwoju zespołu von Hippela i Lindaua. Gen *VHL* położony jest na krótkim ramieniu chromosomu 3 (locus p25.3, MIM\*608537), składa się z trzech egzonów (642 nukleotydy)

i koduje wysoce konserwatywne białko. Obecność transkryptu genu jest obserwowana w różnych typach komórek w wielu tkankach (zarówno w życiu płodowym jak i postnatalnie) [12]. W zależności od miejsca rozpoczęcia translacji, zdeterminowanego obecnością dwóch kodonów metioninowych (startowych), powstają dwie izoformy białka (pVHL). Jedna składa się z 213 aminokwasów (VHL<sub>p30</sub>, ekspresja w cytoplazmie), druga – ze 160 reszt aminokwasowych (VHL<sub>p19</sub>, ekspresja w jądrze komórkowym) [13].

Białko VHL działa w kompleksach z różnymi białkami. Przede wszystkim tworzy kompleks VBC z elonginą C oraz kompleksem elonginy B z kulliną-2 i Rbx (wiążanie przez domenę α) [14]. W warunkach fizjologicznych (prawidłowe stężenie tlenu) kompleks VBC, który posiada aktywność ligazy E3 ubikwityny, odpowiedzialny jest za ubikwitynację podjednostki alfa czynnika indukowanego hipoksją 1 (*hypoxia-inducible factor 1* – HIF1-α), która prowadzi do jego proteolizy w proteasomie i w konsekwencji hamuje transkrypcję genów indukowanych hipoksją [15]. Domeną odpowiedzialną za wiązanie substratu z kompleksem VBC jest domena β pVHL, która wiąże HIF1-α poprzez hydroksylowane reszty proliny. W warunkach hipoksji nie dochodzi do hydroksylacji reszt prolinowych HIF1-α i wiązania z pVHL [16]. Skutkuje to akumulacją HIF1-α, w rezultacie indukowana zostaje transkrypcja genów regulowanych przez białko HIF1 (heterodimer HIF1-α i HIF1-β). Są to m.in. geny kodujące czynniki wzrostu, takie jak: naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), płytkopochodny czynnik wzrostu (*platelet-derived growth factor* – PDGF) i transformujący czynnik wzrostu alfa (*transforming growth factor alpha* – TGF-α) oraz gen *EPO* kodujący erytropoetynę. Ponadto kompleks VBC reguluje HIF2-α, HIF3-α oraz atypową kinazę białkową λ [10, 17, 18].

Dysfunkcja białka VHL powoduje rozregulowanie kontroli nad degradacją HIF1-α i wiąże się ze stałym wysokim poziomem HIF (niezależnie od poziomu tlenu), który prowadzi do nadprodukcji VEGF, PDGF i TGF-α. Jest to najbardziej prawdopodobny mechanizm molekularny wyjaśniający nadmierną nieprawidłową proliferację i angiogenezę w bogato unaczynionych guzach ze spektrum VHL. Wykazano również, że dysfunkcja kompleksu VBC przyczynia się do rozwoju guzów chromochłonnych jako rezultat akumulacji atypowej kinazy białkowej λ. Akumulacja ta prowadzi do nadmiernej ekspresji czynnika transkrypcyjnego B-jun, który hamuje apoptozę w komórkach grzebienia nerwowego w rdzeniu nadnerczy [10, 19].

Zespół VHL jest dziedziczony w sposób autosomalnie dominujący i w około 80% przypadków mutacja jest odziedziczona po jednym z rodziców (dziedziczenie Mendelowskie, 50% ryzyko przekazania zmiany). W pozostałych 20% przypadków zmiana powstaje de novo a w wywiadzie rodzinnym nie ma osób, z rozpoznaniem lub z podejrzeniem VHL [13]. Badanie genetyczne, które pozwala określić status mutacyjny probanda, jest niezwykle istotne w aspekcie opracowania programu opieki profilaktycznej nad nosicielem mutacji (z uwzględnieniem

ryzyka występowania nowotworów ze spektrum tego zespołu oraz objęcia poradnictwem genetycznym całej rodziny. Testy genetyczne mogą być ukierunkowane na analizę jednego genu lub panelu genów związanych z fakomatozami, a w przypadku niejednoznacznego fenotypu można rozważyć badania całogezomowe lub całogenomowe. Najczęstszym typem mutacji genu *VHL* są mutacje typu zmiany sensu (*missense*, około 30–60%), wewnątrzgenowe insercje/delecje, mutacje typu zmiany ramki odczytu i mutacje miejsc splicingowych. Wszystkie prowadzą do skrócenia białka stanowią około 20–30%. Około 20–40% mutacji to duże delecje obejmujące niekiedy cały gen [20].

Dotychczas zidentyfikowano ponad 300 wariantów patogennych w genie *VHL* [17]. Obecność wariantów patogennych stwierdzono we wszystkich 3 egzonach. Kodon 167 kodujący argininę jest uważany za tzw. gorący punkt mutacyjny [21]. Choroba charakteryzuje się zależną od wieku, pełną penetracją oraz zmienną ekspresją (przyjmuje się że około 65. roku życia penetracja przekracza 90%) [13]. Teoria dwóch uderzeń Knudsona, tłumaczy rozwój VHL. Jeden uszkodzony allel obecny jest we wszystkich komórkach (mutacja konstytucyjna), a utrata drugiej kopii (delecja, mutacja punktowa, hipermetylacja sekwencji promotorowej) genu jest czynnikiem rozpoczynającym proces transformacji nowotworowej [22].

Dobrze poznane są korelacje genotyp–fenotyp. Duże zmiany typu delecji całych egzonów oraz mutacje prowadzące do skrócenia białka najczęściej wiążą się z fenotypem VHL typu 1, w którym występują naczyniaki zarodkowe siatkówki i ośrodkowego układu nerwowego, rak nerki, torbiele trzustki, natomiast nie występuje guz chromochłonny. Zmiany patogene typu *missense* są związane z VHL typu 2, w którym obserwuje się występowanie guza chromochłonnego. Typ 2 w zależności od współwystępowania innych manifestacji narządowych dzieli się na typy:

- 2A (guz chromochłonny, naczyniaki zarodkowe, brak raka nerki),
- 2B (guz chromochłonny, naczyniaki zarodkowe, rak nerki),
- 2C (guz chromochłonny) [13].

Sugerowany jest również typ 1B, charakteryzujący się podobnie jak typ 1 brakiem guza chromochłonnego a ponadto małym ryzykiem rozwoju raka nerki. Typ 1B jest charakterystyczny dla pacjentów, u których poza delecją genu *VHL* stwierdza się delecję genu *BRK1* [13].

Identyfikacja wariantu patogennego genu *VHL* pozwala na zastosowanie diagnostyki molekularnej u członków rodziny w celu wytypowania osób z grupy ryzyka. Pozwala to wprowadzić odpowiedni algorytm badań diagnostyczno-profilaktycznych oraz zmniejszyć potrzebę wykonywania procedur przesiewowych u tych osób, które nie odziedziczyły wariantów patogennych [23]. W poradnictwie genetycznym należy również wziąć pod uwagę ryzyko występowania mozaicyzmu komórek germinalnych rodzica, którego dziecko jest chore i ma potwierdzoną mutację genową, natomiast takiej

samej zmiany nie stwierdzono w badaniu rodziców. Ponadto możliwe jest również istnienie mozaicyzmu somatycznego. Wtedy tylko w części komórek obecny jest wariant patogenny. Przebieg choroby w takim przypadku będzie łagodniejszy i o ile wariant patogenny jest nieobecny w komórkach rozrodczych, ryzyko choroby u potomstwa jest na poziomie ryzyka populacyjnego [24].

W Polsce pacjenci z VHL są objęci programem opieki nad rodzinami wysokiego, dziedzicznie uwarunkowanego ryzyka zachorowania na nowotwory złośliwe – Moduł III – „Profilaktyka oraz wczesne wykrywanie nowotworów złośliwych w rodzinach z rzadkimi zespołami dziedzicznej predyspozycji do nowotworów – siatkówczak, choroba Von Hippel-Lindau (VHL)”. W ramach programu gwarantowane świadczenia zapewniają identyfikację pacjentów z VHL na podstawie rozpoznania klinicznego, analizę molekularną – badanie genetyczne, oraz prowadzenie opieki nad pacjentem. Opieka ta obejmuje:

- coroczną konsultację lekarską,
- MRI głowy i rdzenia kręgowego od 11. roku życia (co 1–3 lata, w zależności od zmian obecności OUN),
- USG jamy brzusznej (corocznie),
- TK (lub MRI) jamy brzusznej (co 2–3 lata),
- konsultację okulistyczną od 1. roku życia; badanie dna oka w lustrze Goldmana od 6. roku życia.

W związku z powyższym kluczowa jest identyfikacja osób z grupy ryzyka i jak najwcześniejsze wprowadzenie badań przesiewowych u bezobjawowych nosicieli patogennej zmiany. Dlatego też uzasadnione jest wykonywanie u dzieci z rodzin obciążonych krytyczną mutacją, testów genetycznych w kierunku mutacji genu *VHL*. Ponadto, u rodzin ze zidentyfikowaną mutacją możliwe jest również wykonanie badań prenatalnych oraz preimplantacyjnych [21].

### Stwardnienie guzowate

Stwardnienie guzowate (*sclerosis tuberosa complex* – TSC), zwane również chorobą Bourneville’a-Pringle’a, jest schorzeniem dziedzicznym autosomalnie dominująco, z pełną penetracją i różnorodnym stopniem ekspresji. W około 75% przypadków TSC mutacja powstaje *de novo*. Częstość występowania choroby w populacji ogólnej wynosi 1:6800–1:17 300 [25, 26].

Cechą charakterystyczną stwardnienia guzowatego jest tworzenie guzów hamartomatycznych w obrębie skóry, centralnego układu nerwowego, nerek, płuc i serca. Charakterystyczna triada objawów obejmuje opóźnienie umysłowe, padaczkę oraz naczyniakowłókniaki skóry typu Pringle’a (angiofibroma), które pojawiają się już we wczesnym dzieciństwie i mają postać żółtoróżowych grudek na powierzchniach łojotokowych twarzy (nos, przyśrodkowe części policzków, czoło). Występują one niemal u 90% chorych, ich liczba zwiększa się w okresie dojrzewania. Dają niepożądany efekt kosmetyczny, mogą samoistnie krwawić [26].

Innymi zmianami skórny obserwowanymi w przebiegu TSC są plamy odbarwieniowe w kształcie liścia (*leaf-shaped*

leukoderma), lokalizujące się często na owłosionej skórze głowy. Dają obraz charakterystycznego odbarwionego pasma włosów wyrastającego ze zmiany. Spotyka się ponadto plamy typu confetti w postaci bezbarwnych znamion na wyprostnych powierzchniach kończyn, plamy szagrynowe na tułowiu w okolicy krzyżowej czy włókniaki płaskie w okolicy czołowej – u 25% chorych [27]. Włókniaki dziąseł, podobnie jak włókniaki wałów paznokciowych, zwane guzkami Koenena, pojawiają się głównie u osób dorosłych [26].

### Objawy nerkowe

Angiomiolipoma jest guzem hamartomatycznym występującym u 80% pacjentów. Jest nowotworem łagodnym, jednak powiększając się, może spowodować samoistny krwotok do torebki nerki (zespół Wunderlicha) lub jej niewydolność, będąc przyczyną zwiększonej śmiertelności wśród pacjentów [26]. Rokowniczo niekorzystne jest również wystąpienie raka jasnokomórkowego nerki, na którego chorzy na TSC zapadają częściej w porównaniu z populacją ogólną. Ponadto mutacje obecne w genie *TSC2* zwiększają ryzyko wystąpienia wielotorbielowatości nerek [28].

### Objawy neurologiczne

Padaczka rozpoznana w wieku wczesnodziecięcym, często niemowlęcym, jest objawem charakterystycznym TSC i występuje u 79–90% pacjentów [26]. Obserwowane są ponadto zaburzenia zachowania ze spektrum autyzmu, ADHD, opóźnienie umysłowe – u ok. 40% chorych [29]. Część z tych zaburzeń ma związek ze zmianami strukturalnymi mózgu, które wynikają z tworzenia hamartomatycznych guzów korowo-podkorowych (*cortical-subcortical tubers*) czy podwyściółkowych guzków okołokomorowych (*subependymal heterotopic nodules*). Podwyściółkowe guzki okołokomorowe mogą być punktem wyjścia dla złośliwego guza zwanego gwiaździakiem podwyściółkowym olbrzymiokomórkowym (*subependymal giant cell astrocytoma*), który rozrastając się w komorach bocznych mózgu, może powodować niedrożność otworów Monro, powiększenie komór, wodogłowie i zgon pacjenta.

Podstawą diagnostyki są badania obrazowe mózgowia uwzględniające tomografię komputerową, rezonans magnetyczny, w którym widoczne są również heterotypie istoty białej (*white matter linear migration lines*) występujące u 20–30% pacjentów [30].

### Objawy płucne

Limfangioleiomiomatoza (*lymphangioleiomyomatosis*) jest jednym z objawów płucnych TSC, i jest spowodowana rozplemieniem komórek mięśniowych gładkich wokół oskrzeli i drobnych naczyń, czego skutkiem jest przebudowa tkanki płucnej i tworzenie torbieli. Charakterystyczne objawy to: kaszel, duszność, krwioplucie. Limfangioleiomiomatoza występuje głównie u dorosłych kobiet [25]. U chorych z TSC może wystąpić również wieloogniskowa mikroguzkowa hiperplazja pneumocytów, która daje obraz drobnych guzków widocznych w badaniu radiologicznym [31].

### Objawy sercowe

Zmianami ulegającymi samoistnej inwolucji są mięśniaki prążkowanokomórkowe (*rhabdomyomata*), które występują u najmłodszych dzieci i w większości zanikają w okresie przedszkolnym. U części pacjentów mogą powodować zaburzenia rytmu serca, a niekiedy prowadzić do jego niewydolności [32].

### Objawy oczne

Zmiany oczne występujące w przebiegu TSC to guzki hamartomatyczne siatkówki, które pomimo wieloogniskowej manifestacji najczęściej nie powodują pogorszenia widzenia. Wyróżnia się guzki płaskie (*flat lesions*), typu owoca morwy (*mulberry lesions*) i mieszane (*transitional lesions*) [33].

Wielorakość objawów klinicznych oraz zróżnicowana ekspresja mogą stwarzać trudności diagnostyczne. Pomocne w ustaleniu rozpoznania, jak również dalszego postępowania z pacjentem, są aktualnie obowiązujące kryteria, które zostały zaproponowane w 2021 roku na konferencji w Waszyngtonie [34].

Do rozpoznania choroby wymagane jest spełnienie kryteriów wymienionych poniżej (dwóch dużych lub jednego dużego i dwóch małych).

#### Kryteria duże:

- plamy odbarwieniowe: >3 plam, >5 mm średnicy,
- naczyniakowłókniaki twarzy (*angiofibromas*): >3 lub włókniaki płaskie okolicy czołowej (*angiofibromas or fibrous cephalic plaque*): >3,
- włókniaki okołopaznokciowe, niepourazowe (*ungula fibromas*): >2,
- plamy szagrynowe (*shagreen patch*),
- mnogie hamartoma siatkówki (*multiple retinal hamartomas*),
- guzy korowe mózgu (*cortical dysplasia*),
- guzki podwyściółkowe mózgu (*subependymal nodules*),
- podwyściółkowy gwiaździak olbrzymiokomórkowy (*subependymal giant cell astrocytoma*),
- mięśniaki prążkowanokomórkowe serca (*rhabdomyomata*),
- limfangioleiomiomatoza (*lymphangioleiomyomatosis*),
- naczyniomięśniakotłuszczak (*angiomyolipoma*) [2].

#### Kryteria małe:

- zmiany skórne typu konfetti,
- mnogie ubytki szkliwa (*dental enamel pits*): >3,
- włókniaki jamy ustnej (*intraoral fibroma*): >2,
- zmiany achromatyczne w siatkówce (*retinal achromic patch*),
- mnogie torbiele nerek (*multiple renal cysts*),
- hamartoma w lokalizacji pozanerkowej (*nonrenal hamartomas*).

### Podłoże genetyczne, diagnostyka i poradnictwo genetyczne

Podstawę genetyczną stwierdzenia guzowatego stanowią warianty patogenne obecne w genach supresorowych *TSC1*

lub *TSC2*. Gen *TSC1* zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 9 (*locus* q34.13), najdłuższy transkrypt genu składa się z 23 egzonów (2 pierwsze są niekodujące, a egzon 5 i 12 ulegają alternatywnemu splicingowi), koduje białko hamartynę. Gen *TSC2* koduje tuberynę, położony jest na krótkim ramieniu chromosomu 16 (*locus* p13.3), najdłuższy transkrypt składa się z 42 egzonów (egzon 1 niekodujący, a egzony 25 i 31 ulegają alternatywnemu splicingowi) [35].

Hamartyna z tuberyną tworzą kompleks w którym hamartyna odpowiada za jego stabilizację poprzez superhelikalną domenę (*colied-coil*), dodatkowo wchodząc w interakcje z innymi białkami. Natomiast tuberyna pełni m.in. funkcję białka aktywującego GTPazę (*GTPase activating protein* – GAP) małego białka G Rheb, który reguluje/hamuje mTORC1 (kompleks 1 kinazy mTOR, ssaczy cel rapamycyny [*mammalian target of rapamycin kinase*]), kontrolujący translację białek, wzrost i proliferację komórek. Aktywność kompleksu hamartyna-tuberyna jest hamowana przez kinazy białkowe Akt i p38 MAPK [36].

Dysfunkcja kompleksu hamartyna-tuberyna przyczynia się do braku kontroli nad wieloma ścieżkami sygnałowymi, w tym nad ścieżką mTOR. Prowadzi to do jej stałej aktywności, co za tym idzie do niekontrolowanych podziałów komórkowych i proliferacji, a tym samym do rozwoju łagodnych guzów hamartomatycznych w wielu narządach [37].

Dotychczas poznano około 650 wariantów patogennych obecnych w *TSC1*, najczęściej są to zmiany prowadzące do skrócenia białka. Zmiany rozproszone są po całym genie i nie znaleziono miejsc *hot spot* z wyjątkiem egzonu 15, w którym odnotowano kilka powtarzających się mutacji. Warianty *missense* są rzadkie i występują głównie w miejscu kodującym koniec N białka, przez co wpływają na jego destabilizację [38]. W genie *TSC2* znanych jest około 1900 wariantów patogennych. Rozmieszczone są w całym genie, a ponad 30% zlokalizowanych jest w egzonach od 32 do 41, kodujących domenę karboksylową zawierającą ważne domeny funkcjonalne, w tym GAP [39].

Nie znaleziono korelacji między typem mutacji w *TSC1* a fenotypem, ponadto u chorych obserwuje się lżejszy przebieg choroby w porównaniu z pacjentami z mutacjami w *TSC2*. Kobiety, u których stwierdza się mutacje w domenie karboksylowej genu *TSC2* (egzony 40 i 41), są bardziej narażone na rozwój limfangioleiomiomatozy [40]. Ponadto pacjenci z *TSC* i wielotorbielowością nerek mają wyższe ryzyko cięższego przebiegu choroby, jeśli obecne są patogenne warianty genu *TSC2*. W przypadku delekcji genu *TSC2* dochodzi do delekcji genu kodującego policystynę-1 *PKD1* (końce 3' tych genów zachodzą na siebie), powodując zespół genów przyległych związany z wczesnym wystąpieniem oraz ciężkim przebiegiem wielotorbielowości nerek [41]. Co ciekawe, opisywane są również przypadki osób/rodzin z mutacjami w *TSC2*, które miały łagodniejszy przebieg choroby, były skąpoobjawowe lub asymptomatyczne [42, 43].

Stwardnienie guzowate dziedziczne jest w sposób autosomalnie dominujący ze znaczą przewagą przypadków choroby z mutacją *de novo*. Szacuje się, że około 70% pacjentów nie ma w rodzinie nikogo chorego, natomiast pozostałe 30% to przypadki rodzinne [35]. Mutacje w genie *TSC1* są prawie dwukrotnie częstsze w rodzinach w porównaniu z formą sporadyczną. Penetracja mutacji *TSC1* i *TSC2* jest całkowita, obserwuje się natomiast zmienną ekspresję choroby [42]. Jej objawy występują u osób, u których druga kopia genu ulega wyciszeniu na skutek zmian w obrębie sekwencji DNA (mutacji) lub zmian epigenetycznych – teoria dwóch uderzeń Knudsona [35].

Identyfikacja patogennej zmiany jest niezbędna dla opracowania optymalnego dla pacjenta postępowania profilaktycznego oraz poradnictwa genetycznego obejmującego jego rodzinę. Ryzyko przekazania przez nosiciela mutacji krytycznej zmiany potomstwu wynosi 50%. Obecnie w badaniu genetycznym analizowane są sekwencje obu kluczowych genów oraz zmiany typu delekcji/duplikacji. Metodą, która pozwala na szybką analizę sekwencji, jest sekwencjonowanie następnej generacji (*next generation sequencing* – NGS), natomiast do analizy delekcji/duplikacji rekomendowane są metody oparte m.in. na technice MLPA (amplifikacja sond zależna od ligacji [*multiplex ligation-depend probe amplification*]), FISH (*fluorescent in situ hybridization*) i aCGH (*array comparative genomic hybridization*) [35, 39]. W przypadku niepewnej diagnozy klinicznej można rozważyć użycie testu opartego o wybrany panel genów (diagnostyka różnicowa). Około 70% mutacji stwierdzanych jest w genie *TSC2*, a pozostałe 25% w genie *TSC1*. Niestwierdzenie obecności wariantu patogennego u osoby z rozpoznaniem klinicznym często wiąże się z istnieniem mozaicyzmu. W związku z tym do rozważenia pozostaje badanie innych tkanek chorego. Ponadto możliwy jest również mozaicyzm germinalny u zdrowych rodziców (bez mutacji), którzy mają chore dziecko [35]. W przypadku identyfikacji mutacji germinalnej możliwe jest również przeprowadzenie testów prenatalnych i preimplantacyjnych [39].

## Podsumowanie

Choroba von Hippel i Lindau oraz stwardnienie guzowate należą do grupy fakomatoz – schorzeń uwarunkowanych genetycznie predysponujących do rozwoju nowotworów mnogich. Z uwagi na podobieństwo zmian skórnych występujących w przebiegu omawianych jednostek chorobowych, konieczne jest różnicowanie z nerwiakowłókniakowością 1 i 2 oraz schwannomatozą. Wczesne wykrycie i w konsekwencji objęcie pacjentów wielospecjalistycznym nadzorem poprawia rokowanie, umożliwiając wdrożenie leczenia nowotworów w początkowym stadium zaawansowania choroby. Poszerzająca się wciąż wiedza genetyczna pozwala coraz lepiej poznać obie choroby od strony molekularnej. A to prawdopodobnie pozwoli w przyszłości na wprowadzenie

leczenia personalizowanego, które znacznie podniesie komfort życia pacjentów.

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

**Anna Kofla-Dłubacz**

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wydział Lekarski

II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywności

ul. M. Curie-Skłodowskiej 50/52

55-369 Wrocław

e-mail: anna.kofla-dlubacz@umed.wroc.pl

Otrzymano: 7 czerwca 2021

Zaakceptowano: 18 października 2021

## Piśmiennictwo

- Chittiboia P, Lonser RR. Von Hippel-Lindau disease. *Handb Clin Neurol*. 2015; 132: 139–156, doi: 10.1016/B978-0-444-62702-5.00010-X, indexed in Pubmed: 26564077.
- Ning XH, Zhang N, Li T, et al. Telomere shortening is associated with genetic anticipation in Chinese Von Hippel-Lindau disease families. *Cancer Res*. 2014; 74(14): 3802–3809, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0024, indexed in Pubmed: 24986515.
- Wilding A, Ingham SL, Lalloo F, et al. Life expectancy in hereditary cancer predisposing diseases: an observational study. *J Med Genet*. 2012; 49(4): 264–269, doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100562, indexed in Pubmed: 22362873.
- Neumann H, Wiestler OD. Clustering of features of von Hippel-Lindau syndrome: evidence for a complex genetic locus. *Lancet*. 1991; 337(8749): 1052–1054, doi: 10.1016/0140-6736(91)91705-y, indexed in Pubmed: 1673491.
- Manski TJ. Endolymphatic sac tumors. A source of morbid hearing loss in von Hippel-Lindau disease. *JAMA*. 1997; 277(18): 1461–1466, doi: 10.1001/jama.277.18.1461, indexed in Pubmed: 9145719.
- Poulsen MLM, Budtz-Jørgensen E, Bisgaard ML. Surveillance in von Hippel-Lindau disease (vHL). *Clin Genet*. 2010; 77(1): 49–59, doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01281.x, indexed in Pubmed: 19863552.
- Knutsson KA, De Benedetto U, Querques G, et al. Primitive retinal vascular abnormalities: tumors and telangiectasias. *Ophthalmologica*. 2012; 228(2): 67–77, doi: 10.1159/000338230, indexed in Pubmed: 22738997.
- Renal Cell Carcinoma EAU Guidelines on. 2018.
- Palapattu GS, Kristo B, Rajfer J. Paraneoplastic syndromes in urologic malignancy: the many faces of renal cell carcinoma. *Rev Urol*. 2002; 4(4): 163–170, indexed in Pubmed: 16985675.
- Shuin T, Yamasaki I, Tamura K, et al. Von Hippel-Lindau disease: molecular pathological basis, clinical criteria, genetic testing, clinical features of tumors and treatment. *Jpn J Clin Oncol*. 2006; 36(6): 337–343, doi: 10.1093/jjco/hyl052, indexed in Pubmed: 16818478.
- Choyke PL, Glenn GM, Walther MM, et al. von Hippel-Lindau disease: genetic, clinical, and imaging features. *Radiology*. 1995; 194(3): 629–642, doi: 10.1148/radiology.194.3.7862955, indexed in Pubmed: 7862955.
- Clark PE, Cookson MS. The von Hippel-Lindau gene: turning discovery into therapy. *Cancer*. 2008; 113(7 Suppl): 1768–1778, doi: 10.1002/cncr.23645, indexed in Pubmed: 18800388.
- Maher E, Sandford R. von Hippel-Lindau Disease: an Update. *Current Genetic Medicine Reports*. 2019; 7(4): 227–235, doi: 10.1007/s40142-019-00180-9.
- Lonser R, Glenn G, Walther M, et al. von Hippel-Lindau disease. *The Lancet*. 2003; 361(9374): 2059–2067, doi: 10.1016/s0140-6736(03)13643-4.
- Groulx I, Lee S. Oxygen-dependent ubiquitination and degradation of hypoxia-inducible factor requires nuclear-cytoplasmic trafficking of the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *Mol Cell Biol*. 2002; 22(15): 5319–5336, doi: 10.1128/MCB.22.15.5319-5336.2002, indexed in Pubmed: 12101228.
- Strowitzki MJ, Cummins EP, Taylor CT. Protein Hydroxylation by Hypoxia-Inducible Factor (HIF) Hydroxylases: Unique or Ubiquitous? *Cells*. 2019; 8(5), doi: 10.3390/cells8050384, indexed in Pubmed: 31035491.
- Aronow M, Wiley H, Gaudric A, et al. VON HIPPEL–LINDAU DISEASE. *Retina*. 2019; 39(12): 2243–2253, doi: 10.1097/iae.0000000000002555.
- Haase VH. The VHL tumor suppressor: master regulator of HIF. *Curr Pharm Des*. 2009; 15(33): 3895–3903, doi: 10.2174/138161209789649394, indexed in Pubmed: 19671042.
- Ben-Skowronek I, Kozaczuk S. Von Hippel-Lindau Syndrome. *Horm Res Paediatr*. 2015; 84(3): 145–152, doi: 10.1159/000431323, indexed in Pubmed: 26279462.
- Decker J, Neuhaus C, Macdonald F, et al. Clinical utility gene card for: von Hippel-Lindau (VHL). *Eur J Hum Genet*. 2014; 22(4), doi: 10.1038/ejhg.2013.180, indexed in Pubmed: 23982691.
- Leeuwaarde RS, Ahmad S, Links TP, et al. Von Hippel-Lindau Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. ed. *GeneReviews*®. University of Washington, Seattle 2018: 1–32.
- Kondo K, Kaelin WG. The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Exp Cell Res*. 2001; 264(1): 117–125, doi: 10.1006/excr.2000.5139, indexed in Pubmed: 11237528.
- Priesemann M, Davies KM, Perry LA, et al. Benefits of screening in von Hippel-Lindau disease—comparison of morbidity associated with initial tumours in affected parents and children. *Horm Res*. 2006; 66(1): 1–5, doi: 10.1159/000093008, indexed in Pubmed: 16651847.
- Santarpia L, Sarlis NJ, Santarpia M, et al. Mosaicism in von Hippel-Lindau disease: an event important to recognize. *J Cell Mol Med*. 2007; 11(6): 1408–1415, doi: 10.1111/j.1582-4934.2007.00122.x, indexed in Pubmed: 18205710.
- Yates J. Tuberous sclerosis. *European Journal of Human Genetics*. 2006; 14(10): 1065–1073, doi: 10.1038/sj.ejhg.5201625.
- Portocarrero LK, Quental KN, Samorano LP, et al. Tuberous sclerosis complex: review based on new diagnostic criteria. *An Bras Dermatol*. 2018; 93(3): 323–331, doi: 10.1590/abd1806-4841.20186972, indexed in Pubmed: 29924239.
- Roach ES, Sparagana SP. Diagnosis of tuberous sclerosis complex. *J Child Neurol*. 2004; 19(9): 643–649, doi: 10.1177/08830738040190090301, indexed in Pubmed: 15563009.
- Kandt RS, Haines JL, Smith M, et al. Linkage of an important gene locus for tuberous sclerosis to a chromosome 16 marker for polycystic kidney disease. *Nat Genet*. 1992; 2(1): 37–41, doi: 10.1038/ng0992-37, indexed in Pubmed: 1303246.
- Joinson C, O'Callaghan FJ, Osborne JP, et al. Learning disability and epilepsy in an epidemiological sample of individuals with tuberous sclerosis complex. *Psychol Med*. 2003; 33(2): 335–344, doi: 10.1017/s0033291702007092, indexed in Pubmed: 12622312.
- DiMario F. Brain Abnormalities in Tuberous Sclerosis Complex. *J Child Neurol*. 2016; 19(9): 650–657, doi: 10.1177/08830738040190090401, indexed in Pubmed: 15563010.
- McClintock W. Neurologic manifestations of tuberous sclerosis complex. *J Child Neurol*. 2002; 2(2): 158–163, doi: 10.1007/s11910-002-0025-2, indexed in Pubmed: 15563016.
- Rodrigues DA, Gomes CM, Costa IM. Tuberous sclerosis complex. *An Bras Dermatol*. 2012; 87(2): 184–196, doi: 10.1590/s0365-05962012000200001, indexed in Pubmed: 22570021.
- Rowley SA, O'Callaghan FJ, Osborne JP. Ophthalmic manifestations of tuberous sclerosis: a population based study. *Br J Ophthalmol*. 2001; 85(4): 420–423, doi: 10.1136/bjo.85.4.420, indexed in Pubmed: 11264130.
- Krueger D, Northrup H, Northrup H, et al. Tuberous Sclerosis Complex Surveillance and Management: Recommendations of the 2012 International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference. *Pediatric Neurology*. 2013; 49(4): 255–265, doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.002.
- Rosset C, Netto CB, Ashton-Prolla P. TSC1 and TSC2 gene mutations and their implications for treatment in Tuberous Sclerosis Complex: a review. *Genet Mol Biol*. 2017; 40(1): 69–79, doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0321, indexed in Pubmed: 28222202.
- Tee A, Manning B, Roux P, et al. Tuberous Sclerosis Complex Gene Products, Tuberin and Hamartin, Control mTOR Signaling by Acting as a GTPase-Activating Protein Complex toward Rheb. *Curr Biol*. 2003; 13(15): 1259–1268, doi: 10.1016/s0960-9822(03)00506-2, indexed in Pubmed: 12906785.
- Huang J, Manning BD. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. *Biochem J*. 2008; 412(2): 179–190, doi: 10.1042/BJ20080281, indexed in Pubmed: 18466115.
- Hoogveen-Westerveld M, Ekong R, Povey S, et al. Functional assessment of TSC1 missense variants identified in individuals with tuberous sclerosis complex. *Hum Mutat*. 2012; 33(3): 476–479, doi: 10.1002/humu.22007, indexed in Pubmed: 22161988.

39. Northrup H, Koenig MK, Pearson DA, Au KS. Tuberous Sclerosis Complex-*GeneReviews*<sup>®</sup>. *GeneReviews*<sup>®</sup>. University of Washington, Seattle 1993.
40. Strizheva GD, Carsillo T, Kruger WD, et al. The spectrum of mutations in TSC1 and TSC2 in women with tuberous sclerosis and lymphangio-myomatosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163(1): 253–258, doi: 10.1164/ajrccm.163.1.2005004, indexed in Pubmed: 11208653.
41. Woerner AC, Au KS, Williams AT, et al. Tuberous sclerosis complex and polycystic kidney disease together: an exception to the contiguous gene syndrome. *Genet Med*. 2006; 8(3): 197–198, doi: 10.1097/01.gim.0000204466.34876.d5, indexed in Pubmed: 16540757.
42. Fox J, Ben-Shachar S, Uliel S, et al. Rare familial TSC2 gene mutation associated with atypical phenotype presentation of Tuberous Sclerosis Complex. *Am J Med Genet A*. 2017; 173(3): 744–748, doi: 10.1002/ajmg.a.38027, indexed in Pubmed: 28127866.
43. Farach LS, Gibson WT, Sparagana SP, et al. TSC2 c.1864C>T variant associated with mild cases of tuberous sclerosis complex. *Am J Med Genet A*. 2017; 173(3): 771–775, doi: 10.1002/ajmg.a.38083, indexed in Pubmed: 28211972.