

## ANALÝZA INVERZIÍ V 22. INTRÓNE GÉNU PRE FAKTOR F VIII:C U PACIENTOV S HEMOFÍLIU A V SLOVENSKEJ POPULÁCIÍ

POLÁKOVÁ H., KÁDASI L., FILOVÁ A.

### ANALYSIS OF INTRONE 22 OF THE F VIII:C FACTOR GENE INVERSIONS IN PATIENTS WITH HEMOPHILIA A IN THE POPULATION OF SLOVAK REPUBLIC

Hemophilia A is the result of Factor F VIII:C (F8C) gene mutations. Predominating mutation is inversion, occurring in about 50 % of patients with severe form of the disease. Inversion is the result of homologous recombination between gene A located on the 22. introne of the F8C gene and one of its telomeric copies located about 500 kb from 5' end of the factor F VIII:C gene. This study presents the results of this mutation screening in 84 nonrelated patients with hemophilia A. Inversion was identified in 22 (50 %) of 44 patients with severe form and in 1 (from 13) with moderate form of the disease. Distal type of inversion was more frequent (82.6 %) than proximal one. The identification of inversions enabled direct DNA diagnosis in 50% of patients with severe form of the disease and will be successfully used in the prenatal diagnosis and carrier testing, mainly in families with sporadic occurrence of the disease. (Tab. 1, Fig. 2, Ref. 18.)

**Key words:** hemophilia A, introne 22, factor F VIII:C, inversion, Slovak Republic.

*Bratisl Lek Listy 1998; 99: 538–542*

Hemofília A je X-chromozómovo dedičné ochorenie charakterizované funkčnou poruchou koagulačného faktora F VIII (F VIII:C). Svojou incidenciou, ktorá sa pre európske populácie v literatúre udáva 1 postihnutý na 5000–10 000 novonarodených chlapcov, patrí po syndróme fragilného X a Duchenneovej/Becquerovej dystrofii, medzi najčastejšie sa vyskytujúce dedičné ochorenia podmienené génmi na chromozóme X (Antonarakis a spol., 1985). Ochorenie je zapríčinené mutáciami v géne pre faktor F VIII:C (gén F8C), ktorý bol lokalizovaný do distálnej oblasti

Hemofília A je výsledkom mutácií v géne pre faktor F VIII:C (F8C). Najčastejšou z nich je inverzia, ktorá sa vyskytuje približne u 50 % pacientov s ťažkou formou tohto ochorenia. Inverzia je výsledkom homologickej rekombinácie medzi génom A lokalizovaným v 22. intróne génu F8C a jednou z jeho telomerických kópií ležiacich približne 500 kb od 5' konca génu pre faktor F VIII:C. V práci predkladáme výsledky skriningu výskytu tejto mutácie u 84 nepríbuzných pacientov s hemofiliou A. Prítomnosť inverzie sme identifikovali u 22 (50 %) zo 44 pacientov s ťažkou formou a u 1 (z 13) so stredne ťažkou formou ochorenia. Distálny typ inverzie sa vyskytoval častejšie (82,6 %) ako proximálny typ. Identifikácia inverzií umožnila priamu DNA diagnostiku u 50 % pacientov s ťažkou formou hemofílie A a úspešne sa využije pri prenatálnej diagnostike a testovaní prenášačiek, hlavne v rodinách so sporadickým výskytom tohto ochorenia. (Tab. 1, obr. 2, lit. 18.)

**Kľúčové slová:** hemofília A, intrón 22, faktor F VIII:C, inverzie, Slovensko.

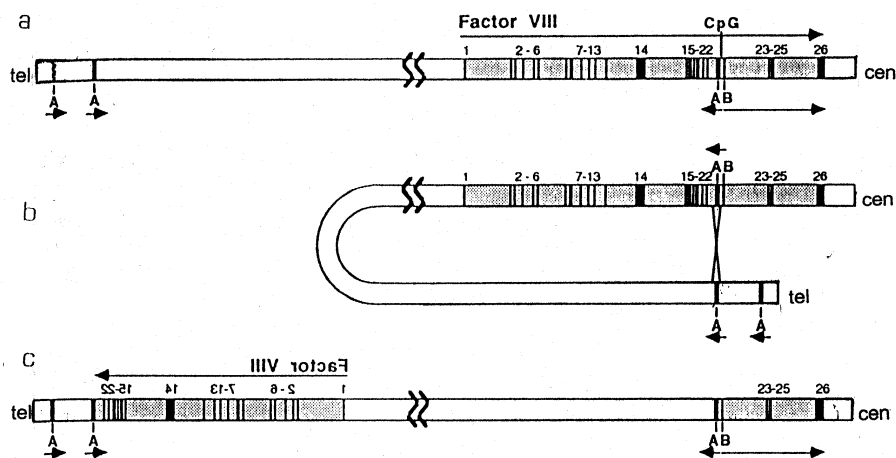
*Bratisl. lek. Listy, 99, 1998, č. 10, s. 538–542*

dlhého ramena chromozómu X (Xq28). Gén F8C bol izolovaný, klonovaný a bližšie charakterizovaný už roku 1984 dvoma americkými výskumnými pracoviskami (Gitschier a spol., 1984), čo prispelo k poznaniu molekulárnogenetickej podstaty tohto ochorenia. V súčasnosti je v literatúre opísaná celá škála mutácií, ako sú substitúcie báz, delécie, duplikácie a inzercie rôznych sekvencií DNA v tomto géne (Tuddenham a spol., 1994). Veľká heterogenita mutácií, ako aj neobvyklá veľkosť génu (186 kb dlhý, s 26 exónmi, ktoré sa prepisujú do 9 kb dlhšej mRNA) (Gitschier a spol., 1984), donedávna sťažovali determináciu všetkých genetických defektov vyskytujúcich sa u pacientov s hemofiliou A. Rozvoj nových metód, ako je polymerázová reťazová reakcia (PCR) v kombinácii s metódami denaturačnej gradientovej gélovej elektroforézy (DGGE), detekcie polymorfizmu konformácie jednoreťazovej DNA (SSCP) a ďalších, však umožnili analyzovať také dlhé gény, ako je aj F8C. Aj napriek využitiu týchto metód pri analýze mutácií v géne F8C u pacien-

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky Slovenskej akadémie vied v Bratislave

The Institute of Molecular Physiology and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

**Address for correspondence:** H. Poláková, RND, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV, Vlárška 5, 833 34 Bratislava, Slovakia.



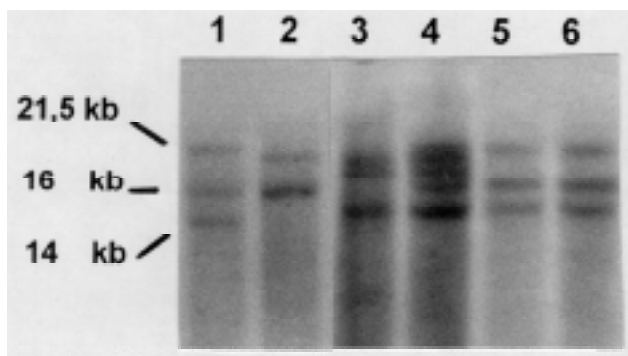
Obr. 1. Predpokladaný mechanizmus inverzie v géne F8C. a) Oblasť Xq28 zahrňujúca gén F8C s telomérou naľavo a centromérou napravo. Gén A leží v intróne 22, jeho dve kópie distálne od 5' konca génu F8C. Znázornený je aj gén B, ktorého 1. exón leží v 22. intróne a má s génom A spoločný obojstranný promótor. Smer transkripcie jednotlivých génov je vyznačený šípkami. b) Predpokladaný model homologickej rekombinácie medzi vnútrogénovou kópiou génu A a jednou z jeho mimogénových kópií. Výsledkom "crossing over" medzi týmito identickými oblasťami je inverzia sekvencie medzi dvoma rekombinovanými génmi A. c) Rekombinácia zahrňuje len jednu kópiu, distálnu alebo proximálnu, a výsledkom je rozdelenie génu F8C na dve časti, s neporušeným promótorom a exónmi 1–22, opačne orientovanými k exónom 23–26. (Prevzaté z Lakicha a spol., 1993).

Fig. 1. Illustration of the mechanisms of inversion. a) Region of Xq28 including the factor VIII gene, oriented with the telomere to the left, is depicted. Three copies of the A gene are indicated, two lying distal of factor VIII and one inside the intron 22. The location of the B gene transcript is also shown. The arrows indicate the direction of transcription of the factor VIII, internal A, B genes and two extragenic A gene copies. b) Proposed homologous recombination between the intron 22 copy of A gene and one of the two extragenic copies. Cross-over between these two identical regions, oriented as shown, would result in an inversion of sequence between the two recombined A genes. c) A recombination could involve either of the copies, distal or proximal but only one is presented. Inversion results in the factor VIII gene being divided into two parts, exons 1–22 and exons 23–26, with opposite orientation. (From Lakich et al., 1993).

to v s hemofiliou A sa podarilo odhaliť podstatu mutácií pri viac ako 90 % ľahkých a stredne ťažkých foriem, no len približne u 50 % ťažkých foriem pacientov s týmto ochorením (Higuchi a spol., 1991 a, b). K objasneniu kauzálnej príčiny ochorenia u týchto pacientov prispeli až práce Lakicha a spol. (1993) a Naylor a spol. (1993), ktorí identifikovali mutáciu zahrňujúcu veľkú inverziu sekvencie DNA v géne pre faktor F VIII:C vyskytujúcej sa približne u 40–45 % pacientov s ťažkou formou hemofílie A. Mechanizmus inverzie je znázornený na obrázku 1. Inverzia je výsledkom rekombinácie zahrňujúcej gén A, ktorý sa nachádza v 22. intróne génu pre faktor F VIII:C. Jeho ďalšie dve kópie sú lokalizované približne 500 kb distálne od 5' konca génu F8C. Na rozdiel od génu A, ktorý sa prepisuje v opačnej orientácii, je smer transkripcie jeho telomerických kópií rovnaký ako génu pre faktor F VIII:C. Rekombinácia medzi génom A a jednou z jeho kópií vedie k inverzii približne 600 kb dlhého úseku DNA, výsledkom čoho je rozdelenie génu F8C na dve časti s neporušeným promótorom a exónmi 1–2 opačne orientovanými k exónom 23–26 (Levinson a spol., 1990; Lakich a spol., 1993; Naylor a spol., 1993). V závislosti od toho, ktorá kópia génu A je zahrnutá do rekombinácie, opisujú sa 2 typy inverzií: častejšie sa vyskytujúca distálna a menej častá proximálna. Zriedkavejšie sa vyskytuje tretí typ inverzie pozorovaný u pacientov s výskytom viac ako dvoch mimogénových kópií génu A (Lakich a spol., 1993; Figueiredo a spol., 1994; Rossiter a spol., 1994). Výsledkom prítomnosti inverzie je zmena dĺžky reštrikčných frag-

mentov pozorovaných na autorádiograme, ktoré možno detegovať bežnou metódou Southernovej hybridizácie, a tak identifikovať túto častú mutáciu u viac ako 25 % pacientov s hemofiliou A (Rossiter a spol., 1994). Ako však dokumentujú údaje literatúry, dosiaľ sa tento typ mutácie okrem malých výnimiek (Deutz-Terlouw a spol., 1995) pozoroval len u pacientov s ťažkou formou tohto ochorenia (Higuchi a spol., 1991 a, b; Lakich a spol., 1993; Naylor a spol., 1993; Rossiter a spol., 1993; Antonarakis a spol., 1995; Becker a spol., 1996). Pozorovania uvedených autorov sa stali podkladom pri uskutočňovaní priamej DNA diagnostiky u 50 % rodín s ťažkou formou hemofílie A. Zvláštnosť tejto mutácie je, že inverzie spôsobené intrachromozómovou rekombináciou medzi homologickými oblasťami vnútrogénových a mimogénových kópií génu A sa dosiaľ nepozorovali u človeka a sú unikátne pre génovú oblasť faktora F VIII:C (Rossiter a spol., 1994).

V našom laboratóriu sa zaoberáme molekulárnogenetickou diagnostikou hemofílie A už od roku 1987, a to výlučne metódou nepriamej DNA diagnostiky pomocou väzby s tesne viazaným polymorfizmom dĺžky reštrikčných fragmentov (RFLP) (Géczy a spol., 1990). Vďaka veľkej variabilite mutácií v géne F8C zodpovedných za toto ochorenie je jeho priama DNA diagnostika identifikáciou zodpovedných mutácií v praxi nemožná, pokiaľ vopred nepoznáme typ mutácie. Je veľkým prínosom pre priamu diagnostiku tohto ochorenia identifikácia inverzie v géne F8C – jednej z najčastejšie sa vyskytujúcej mutácie u pacien-



Obr. 2. Výsledky Southernovej hybridizácie demonštrujúce rôzne typy inverzií po štiepení DNA reštriktázou *BclI* a hybridizácii s 0,9 kb *EcoRI/SstI* fragmentom vyštiepeným z plazmidu p482.6. V dráhe 1 je kontrolná DNA s fragmentmi dĺžky 21,5 kb, 16 kb a 14 kb. V dráhe 5 a 6 sú pacienti s hemofiliou A bez prítomnosti inverzie s fragmentmi normálnej dĺžky. V dráhe 2 je postihnutý jedinec s abnormálnymi fragmentmi 20 kb, 15,5 kb a s normálnym 16 kb dlhým, reprezentujúce proximálny typ inverzie; v dráhe 3 je pacient s distálnym typom inverzie, s fragmentmi abnormálnej dĺžky 20 kb a 17,5 kb a s normálnym 14 kb fragmentom; v dráhe 4 je prenášačka s distálnym typom inverzie. Obrázky sú zložené z dvoch autorádiogramov, dráhy 1–2 a 3–6.

Fig. 2. Southern blot/hybridization analysis of *BclI*-digested DNA samples and hybridized to gene A probe, demonstrating various inversion mutation types. Lane 1: control DNA sample and lanes 5 and 6 hemophilia A patients with a normal hybridization pattern showing 21.5 kb, 16 kb and 14 kb bands. Lane 2: affected individual with abnormal bands of 20 kb and 15.5 kb and the normal 16 kb band indicating proximal type of inversion; lane 3 affected individual with abnormal 20 kb and 17.5 kb and the normal 14 kb band indicating distal type of inversion; lane 4: a carrier with distal type of inversion. Figure is composed of two autoradiograms, lanes 1–2 and lanes 3–6.

to v ťažkou formou hemofílie A. Preto sme uskutočnili skrining prítomnosti inverzií v géne F8C v súbore pacientov pochádzajúcich z rodín s výskytom hemofílie A na Slovensku. Cieľom predloženej práce bolo získať výsledky uplatniť pri priamej DNA diagnostike tohto ochorenia, ako aj pri prenatálnej diagnostike a pri testovaní prenášačiek v rodinách s výskytom tejto mutácie.

#### Materiál a metódy

**Pacienti.** V spolupráci s viacerými klinickými pracoviskami sme uskutočnili DNA analýzu u 84 pacientov – mužov pochádzajúcich z 84 rodín s výskytom hemofílie A. Na základe hematologického vyšetrenia (Klinika hematológie a transfúziológie v Bratislave) sme rozdelili pacientov podľa závažnosti postihnutia do troch skupín:

- ťažký stupeň – 44 (53 %) pacientov (F VIII:C ≤ 1 %),
- stredne ťažký stupeň – 13 (16 %) pacientov (F VIII:C 2–5 %),
- ľahký stupeň – 27 (31 %) pacientov (F VIII:C 5–25 %).

V rodinách s identifikovanými inverziami sme analyzovali DNA od 18 matiek postihnutých, 2 starých matiek, 1 starého otca a 34 suspektných prenášačiek mutácie. Celkovo sme urobili 140 analýz DNA.

**Metódy.** Genómovú DNA sme izolovali z leukocytov periférnej krvi bežnou metódou fenolovo/chloroformovej extrakcie

Tab. 1. Výskyt inverzií u pacientov s hemofiliou A.  
Tab. 1. Inversion mutations in patients with hemophilia A.

Závažnosť ochorenia Disease severity	N**	Typy inverzií Type of inversions		Spolu Total
		Distálny Distal	Proximálny Proximal	
ľahký mild	27	-	-	-
stredne ťažký moderater	13	1	-	1 (7,6%)
ťažký severe	44	18	4	22 (50%)
Spolu Total	84	19 (82,6%*)	4 (17,4%*)	23 (23,7%)

\* % z celkového počtu inverzií  
% of total number of inversions

\*\* počet pacientov  
number of patients

podľa Kunkela a spol. (1977). Štiepili sme 7 µg DNA reštrikčnou endonukleázou *BclI* pri 65 °C, vzniknuté fragmenty elektroforeticky delili na 0,7 % agarózovom géli počas 48 hodín (3 V/cm), denaturovanú DNA preniesli na nylonovú membránu (Hybond N+, Amersham) a hybridizovali s 0,9 kb dlhým *EcoRI/SstI* fragmentom vyštiepeným z plazmidu p482.6 (ATTC katalóg č. 57 203), ktorý opísal Levinson a spol. (1990). Membrány sme premývali pri 65 °C počas 20 min s 1xSSC; 0,1 % SDS a 2-krát pri 65 °C počas 15 min s 0,1xSSC; 0,1 % SDS. Autorádiografiu sme uskutočnili pri -70 °C použitím zosilňovacej fólie počas 2–5 dní. DNA sondu sme značkovali rádionuklidom  $\alpha$  <sup>32</sup>P dCTP (Amersham) metódou náhodných hexanukleotidových primerov (Feinberg a Vogelstein, 1983).

#### Výsledky a diskusia

Výsledky DNA analýzy v našej vzorke hemofilických pacientov sú v tabuľke 1. Z celkového počtu 84 pacientov sme u 23 (23,7 %) zaznamenali prítomnosť inverzií, pričom väčšina z nich zahrňovala distálny typ (82,6 %) (obr. 2, dráha 3), menej často sa vyskytoval proximálny typ (17,4 %) (obr. 2, dráha 2). Výskyt 50 % frekvencie inverzií, ktorú sme pozorovali u pacientov s ťažkou formou tohto ochorenia, súhlasí s >45 % frekvenciou tejto mutácie pozorovanou u pacientov z iných európskych populácií (Lakich a spol., 1993; Deutz-Terlouw a spol., 1995; Figueiredo a spol., 1994). Hoci niektoré ďalšie práce dokumentujú o niečo nižšiu frekvenciu inverzií (37–45 %) (Antonarakis a spol., 1995; Becker a spol., 1996; Naylor a spol., 1993), je pravdepodobne táto variabilita spôsobená rozdielnym počtom pacientov zahrnutých do analýzy. Všeobecne pomer inverzií podľa údajov uvedených prác varíruje v rozmedzí 37–57 %. Naše výsledky dokumentujú, že aj v slovenskej populácii hemofilikov je táto mutácia najčastejšou príčinou hemofílie A u pacientov s ťažkou formou tohto ochorenia.

Ako vyplýva z výsledkov prác uvedených autorov, inverzie sa dosiaľ pozorovali len u pacientov s ťažkým stupňom hemofílie A a je známych len málo, ktoré dokumentujú jej prítomnosť u pacientov so stredne ťažkým stupňom tohto ochorenia (Deutz-Terlouw a spol., 1995). Ďalším takýmto príkladom je 1 pacient vyskytujúci sa v našej vzorke hemofilikov klinicky zaradený medzi stredne ťažké formy s prítomnosťou inverzie. Aj napriek tomu, že jeho klinický a hematologický nález sa opakovane potvrdil, niekedy ťažko pri hraničných prípadoch určit presný stupeň závažnosti ochorenia. Existuje aj niekoľko ďalších faktorov, ako napríklad životný štýl, spôsob stravovania a podobne, ktoré môžu značne ovplyvniť hematologickú a klinickú diagnózu. Navyše nie je vylúčená ani možnosť fenotypickej variability medzi pacientmi s prítomnosťou inverzie, ako dokumentujú hemofilickí pacienti s výskytom rovnakej bodovej mutácie v géne F8C, no s rozličným stupňom závažnosti klinickej manifestácie (Tuddenham a spol., 1994).

Pri hemofílii A sa opisuje, že viac ako 25–30 % prípadov pacientov, sú výsledkom nových mutácií, ktoré vznikajú pravdepodobne počas gametogenézy u mužských predkov z matkinej strany postihnutého (Haldane a spol., 1946). Z týchto pozorovaní vyplýva, že takmer všetky matky pacientov nesúcich inverziu, by mali byť prenášačky tejto mutácie. Ako ukázala DNA analýza 18 matiek pacientov v našej vzorke pochádzajúcich z 23 rodín s výskytom inverzie, všetky matky boli prenášačky tejto mutácie, čo potvrdzujú aj výsledky iných prác (Rossiter a spol., 1994; Antonarakis a spol., 1995; Becker a spol., 1996). Ako ďalej vyplýva z pozorovaní uvedených autorov, tieto mutácie vznikajú vo veľkej väčšine počas spermatogenézy u mužských predkov, zriedkavo u ženských predkov z matkinej strany postihnutého. Pôvod tejto mutácie v našej vzorke postihnutých sme mohli sledovať len v 3 (z 23) rodinách, od ktorých sme mali k dispozícii DNA od starých matiek a v 1 prípade aj od starého otca z matkinej strany postihnutých. DNA analýza zahrňovala aj určenie haplotypov za použitia dvoch vnútrogénových polymorfizmov (RFLP) *BclII* (intrón 18), *XbaI* (intrón 22) a mimogénového polymorfizmu typu VNTR *St14* (DXS52) (z angličtiny – variabilný počet tandémovo sa opakujúcich sekvencií DNA) (Gécz a spol., 1990). Aj napriek tomu, že matky pacientov vo vyšetrovaných rodinách boli prenášačky, u ich starých matiek ani u starého otca sme nedokázali prítomnosť inverzie. Vyšetrením RFLP polymorfizmov a zostavením haplotypov sa nám podarilo v 2 rodinách identifikovať de novo mutáciu, ktorá vznikla počas spermatogenézy u nepostihnutého starého otca. Pretože tretia vyšetrovaná rodina bola neinformatívna pre sledované RFLP, nedá sa posúdiť pôvod mutácie.

Súčasťou DNA analýzy v rodinách s výskytom inverzie bolo aj testovanie možných prenášačiek. Všeobecne sme z 34 suspektných prenášačiek u 10 z nich identifikovali prítomnosť inverzie a 23 bolo vylúčených z prenášačstva tejto mutácie (obr. 2, dráha 4).

Detekciu inverzií v géne F8C sme u 50 % pacientov s ťažkou formou a 1 pacienta so stredne ťažkou formou hemofílie A identifikovali priamu mutáciu, výsledkom ktorej je manifestácia tohto ochorenia. Výsledky práce zároveň prispeli k odhaleniu alebo vylúčeniu prenášačiek v rodinách s hemofíliou A a umožnili uskutočniť priamu DNA diagnostiku hlavne v rodinách predtým neinformatívnych pre sledované RFLP.

Analýza inverzií nájde v praxi uplatnenie ako základný test pri priamej diagnostike DNA v rodinách s ťažkou formou hemofílie A, pri prenatálnej diagnostike a pri vyhľadávaní prenášačiek, hlavne v prípadoch so sporadickým výskytom tohto ochorenia.\*

### Literatúra

**Antonarakis S.E., Waber P.G., Kittur S.D. a spol.:** Hemophilia A. Detection of molecular defects and carriers by DNA analysis. *New Engl. J. Med.*, 313, 1985, s. 842–848.

**Antonarakis S.E., Rossiter J.P., Young M. a spol.:** Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A: results of an international consortium study. *Blood*, 86, 1995, s. 2206–2212.

**Becker J., Schwaab R., Moller-Traube A. a spol.:** Characterization of the factor VIII defect in 147 patients with sporadic hemophilia A: Family studies indicate a mutation type-dependent sex ratio of mutation frequencies. *Amer. J. Hum. Genet.*, 58, 1996, s. 657–670.

**Deutz-Terlouw P.P., Losekoot M., Olmer R. a spol.:** Inversions in the factor VIII gene: improvement of carrier detection and prenatal diagnosis in Dutch haemophilia A families. *J. Med. Genet.*, 32, 1995, s. 296–300.

**Feinberg A.P., Vogelstein B.:** A technique for radiolabelling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal. Biochem.*, 132, 1983, s. 6–13.

**Figueredo M.S., Tavella M.H., Simoes B.P.:** Large DNA inversions, deletions, and TaqI site mutations in severe haemophilia A. *Hum. Genet.*, 94, 1994, s. 473–478.

**Gaucher C., Mazurier C.:** Characterization of factor VIII gene inversions using a non-radioactive detection method: a survey of 102 unrelated haemophilia A families from northern France. *Nouv. Rev. Fr. Haematol.*, 37, 1995, s. 131–136.

**Gécz J., Kádasi L., Poláková H., Ferák V.:** Uplatnenie analýzy DNA v diagnostike a prevencii hemofílie A. *Bratisl. lek. Listy*, 91, 1990, s. 219–224.

**Gitschier J., Wood W.L., Goralka T.M. a spol.:** Characterization of human factor VIII from gene. *Nature*, 312, 1984, s. 326–330.

**Haldane J.S.B.:** The mutation rate of gene for haemophilia and its segregation ratios in males and females. *Ann. Eugenics*, 13, 1946, s. 262–271.

**Higuchi M., Antonarakis S.E., Kasch L. a spol.:** Molecular characterization of mild-to-moderate hemophilia A: detection of mutation in 25 of 29 patients by denaturing gradient del electrophoresis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 1991 a, s. 8307–8311.

**Higuchi M., Kazazian H.H., Kasch L. a spol.:** Molecular characterization of severe hemophilia A suggests that about half the mutations are not within the coding regions and splice junctions of the factor VIII gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 1991 b, s. 7405–7409.

**Kunkel L.M., Smith K.D., Boyer S.H. a spol.:** Analysis of human Y-specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 1977, s. 1245–1249.

\*Tento projekt bol financovaný čiastočne grantom GAV Slovenska a čiastočne grantom Komisie Európskej spoločnosti č. ERBCIPACT920331. Ďakujeme pracovníkám klinických genetik za spoluprácu a I. Szomolayovej za izoláciu DNA uskutočnené u pacientov z príslušných rodín.

**Lakich D., Haig H., Kazazian H.H. a spol.:** Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe hemophilia A. *Nature Genet.*, 5, 1993, s. 236–241.

**Levinson B., Kenwrick S., Lakich D. a spol.:** A transcribed gene in intron of human factor VIII gene. *Genomics*, 1990, s. 1–11.

**Naylor J.A., Gren P.M., Rizza C.R., Giannelli F.:** Analysis of factor VIII mRNA defects in everyone of 28 haemophilia A patients. *Hum. Mol. Genet.*, 2, 1993, s. 11–17.

**Rossiter J.P., Young M., Kimberland M.L. a spol.:** Factor VIII gene inversions causing severe hemophilia A originate almost exclusively in male germ cells. *Hum. Mol. Genet.*, 3, 1993, s. 1035–1039.

**Tuddenham E.G.D., Schwaab R., Seehafer J. a spol.:** Hemophilia A database of nucleotide substitutions, deletions, insertions, and rearrangements of the factor VIII gene. *Nucl. Acid. Res.*, 22, 1994, s. 3511–3533.

Do redakcie došlo 6.12.1996.

---

#### PREDSTAVUJEME NOVÉ KNIHY

---

##### **Teplan V.: Praktická nefrologie.**

Praha, Grada Publ. 1998, formát B5, 44 tabuliek, 8 čiernobielých obrázkov a schém, 274 strán.

Predstavovaná publikácia odráža reálne potreby nášho zdravotníctva. Len málo medicínskych odborov zaznamenalo taký dynamický rozvoj ako práve klinická nefrológia. Významný posun nastal v liečbe chronického i akútneho zlyhania obličiek dialyzačnými technikami. Stále sa zvyšuje počet transplantovaných pacientov. Aj v tejto oblasti sa porovnávame s vyspelým zahraničím. Je však pre nás naďalej nepriaznivým zistením, že až tretina pacientov nastupuje na dialyzačnú liečbu bez toho, aby sa na ochorenie obličiek liečili, a ich ochorenie sa spozoruje až v vo fáze úplného zlyhania obličiek. Vzniká veľká priepasť medzi nefrológmi špecialistami a výsledkom práce praktických lekárov v teréne, v ordináciách ktorých sú prakticky všetci títo pacienti najskôr vyšetrení a — nezachytení. Úloha praktického lekára je z hľadiska prvého záchytu ochorenia nezastupiteľná (nefrológia prvého kontaktu). Je samozrejmé, že byť erudovaným praktickým lekárom, ktorý dokáže zachytiť súčasné moderné trendy v celej šírke je veľmi zložitá. Praktický lekár už nevystačí so základnými znalosťami základných lekárskejších odborov, musí byť doslova špecialistom najmä v diagnostike iniciálnych štádií závažných ochorení.

Preložená publikácia vychádza z tohto zámeru. Nefrologická problematika je spracovaná prehľadne, v celej šírke s akcentom na situácie, v ktorých je najčastejšie práve praktický lekár, ktorý musí zvoliť ďalší postup pri diagnostike a liečbe tejto skupiny pacientov. Kniha má 18 kapitol. Prvé dve sa venujú anatómii a fyziológii obličiek, ďalšia vyšetrovacím metódam v nefrológii. Glomerulonefritídy sú obsiahnuté v dvoch kapitolách — primárne a sekundárne glomerulonefritídy. Ďalej je to arteriálna hypertenzia a obličky, cievne choroby s akútnym priebehom a tubulointersticiálne nefritídy. Nasledujú obštrukčné uropatie, ochorenia obličiek spojené s metabolickými syndrómami, dedičné a vrodené ochorenia, močové kamene a tumory. Pomerne veľkú časť tvoria závažné časti akútneho a chronického zlyhania obličiek a liečebné postupy pri nich. V závere sú nefrotoxicke postihnutia obličiek a urogenitálne úrazy. Autori pripojili aj tabulky výživových hodnôt potravín, zoznam použitej a odporúčanej literatúry. Pomocníkom pre dobrú orientáciu v texte je vecný index.

Kniha je vhodná pre praktických lekárov prvého kontaktu, ale aj dobrým didaktickým sprievodcom pre študentov medicíny.

*M. Bernadič*