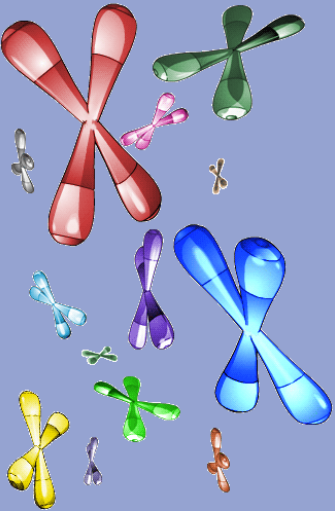


Strukturní variabilita genomu a „vzácná“ chromozomová onemocnění

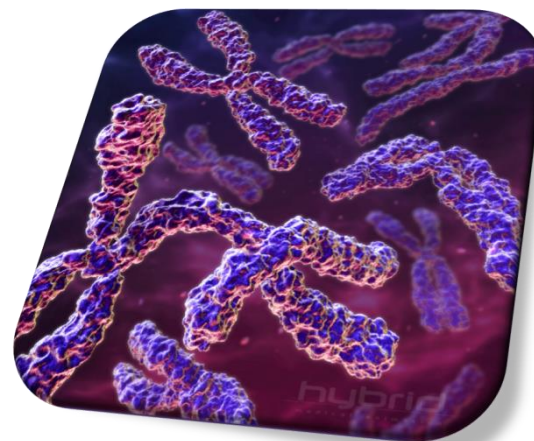


Petr Kuglík

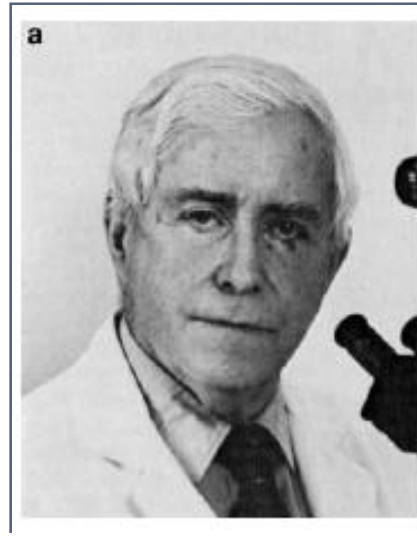
Ústav experimentální biologie PŘF MU v Brně
Oddělení lékařské genetiky FN Brno



1956 - 2006



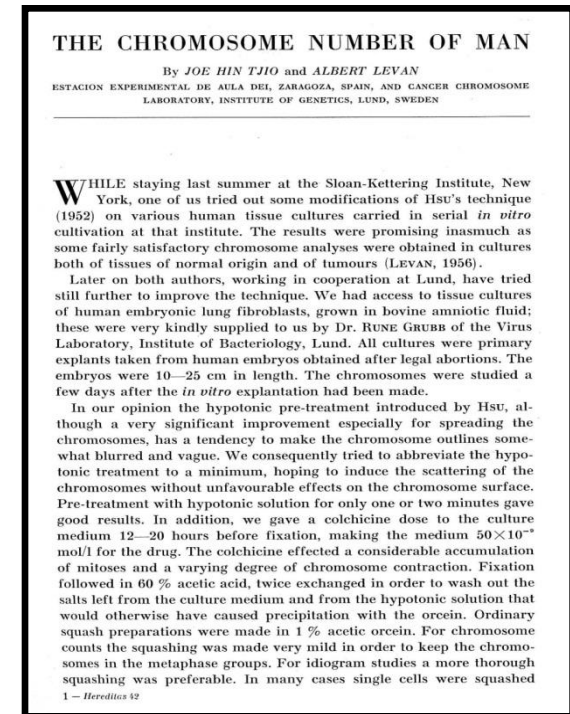
1956 - spočítání lidských chromozomů



Joe Hin Tjio (1919 - 2001) Albert Levan (1905 -1998)

**Člověk má v jádře každé své tělní buňky
23 párů chromozomů,
celkem má tedy 46 chromozomů**

Tjio, T.H., Levan, A.:
The chromosome number of man.
Hereditas 42:1, 1956

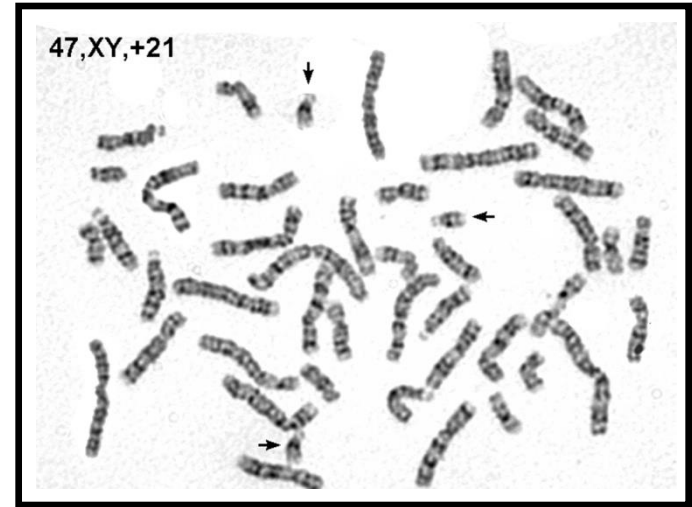




Počátky klinické cytogenetiky

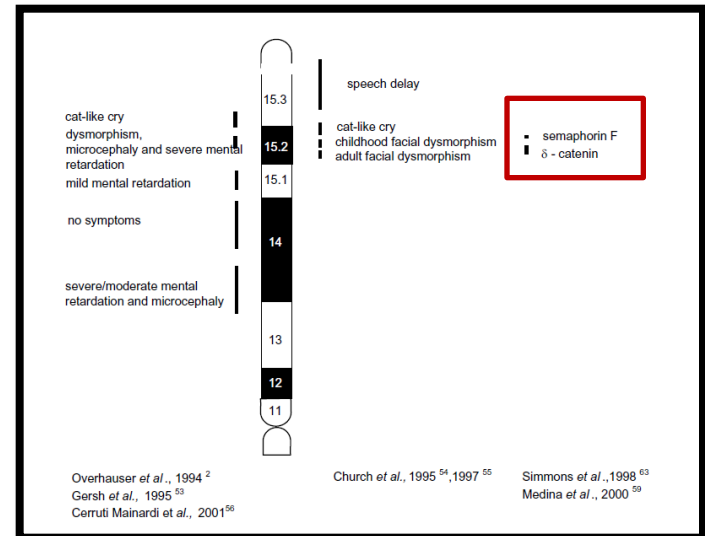
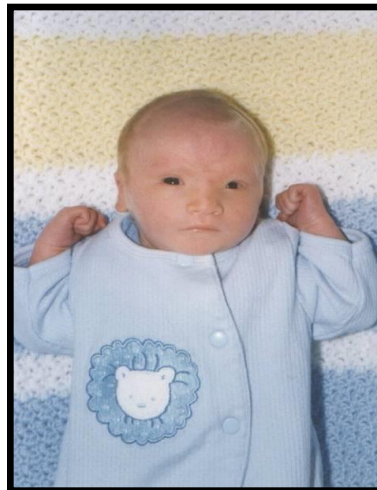
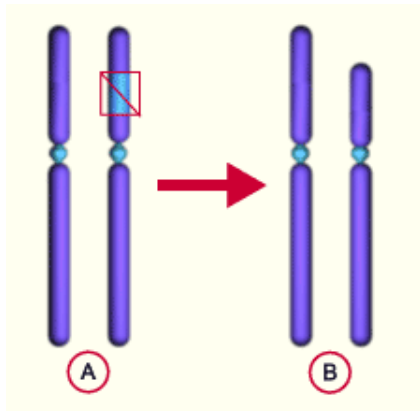
Jerome LeJeune

Trizomie 21 - 1959

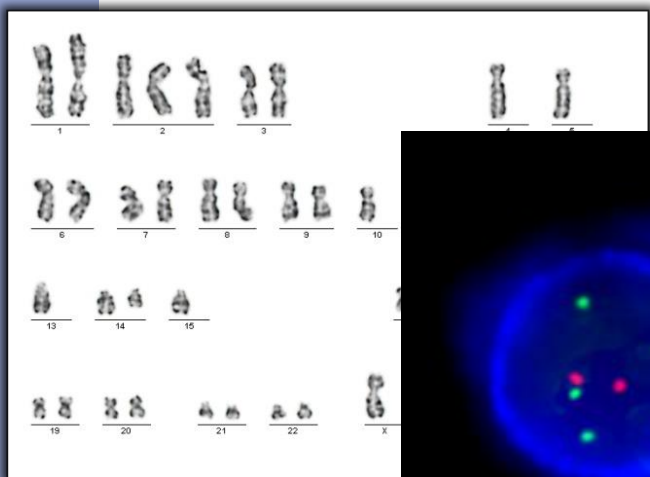


Cri du chat delece 5p- 1963 (5-40 Mb)

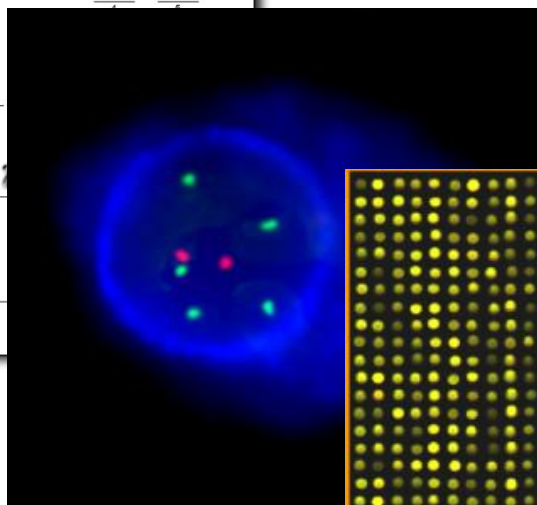
1:10 - až 15 000 dětí



Vývoj cytogenetických technik od chromozomů k DNA čipům a NGS

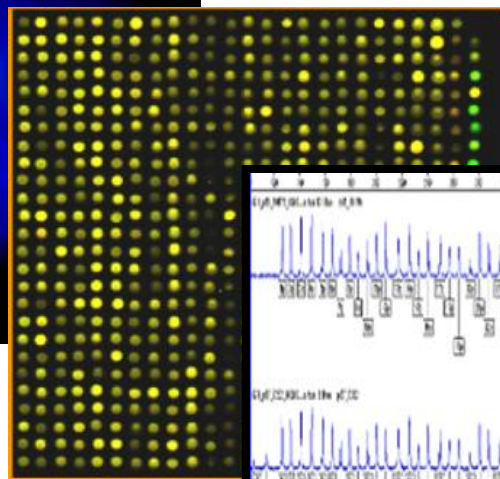


1971 G-pruhování (5 – 10 Mb)

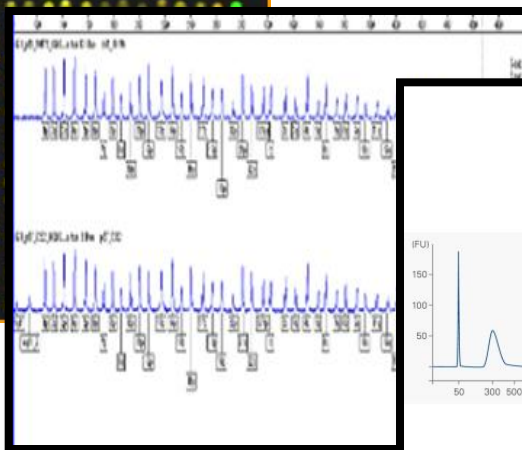


1981 Molekulární cytogenetika

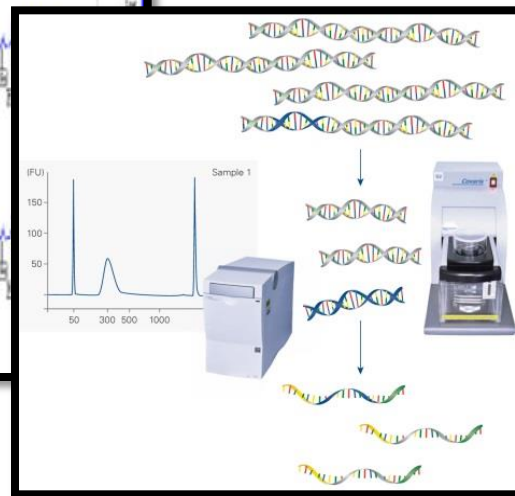
FISH (100 kb)



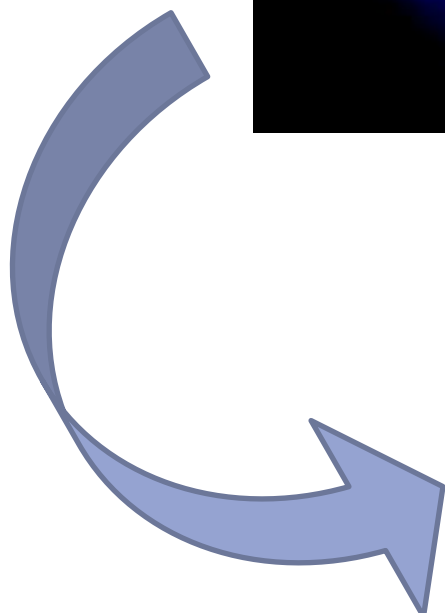
1996 array-CGH (oligo 0,06 kb)



2002 MLPA 50kb



2003 NGS 1bp



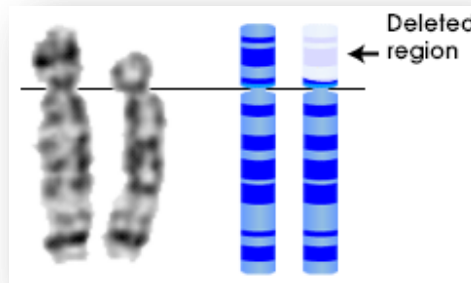
Od chromozomů k
nukleotidům...

DNA mikročipy – revoluce v cytogenetice

Array CGH: ~1000-krát větší rozlišení než konvenční cytogenetika !!!

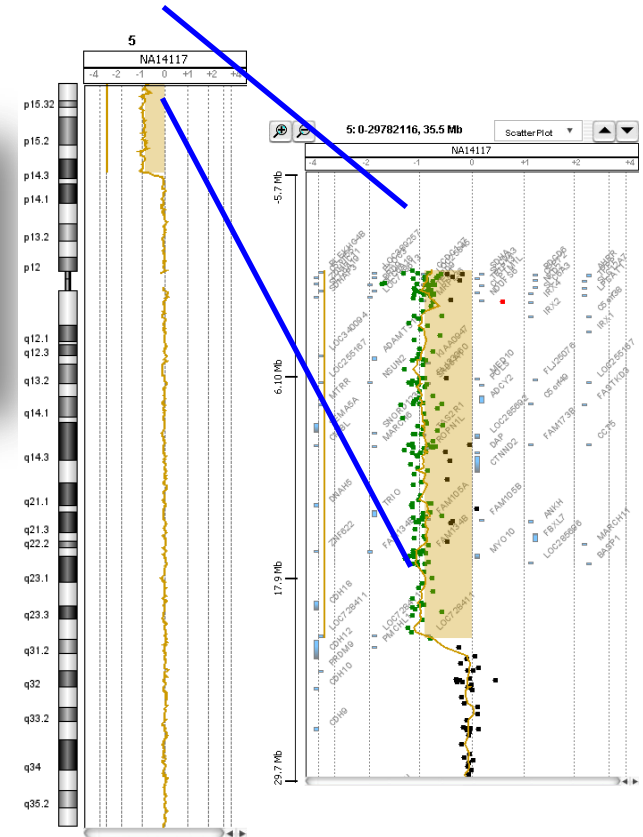


Tradiční karyotypování
5-10 Mb



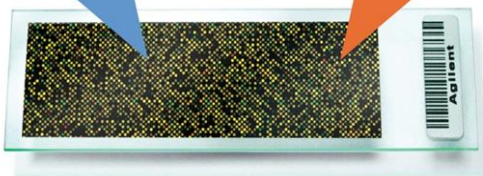
NA14117
46,XY,del(5)(qter>p14:)

Microarray CGH 50-100 kb

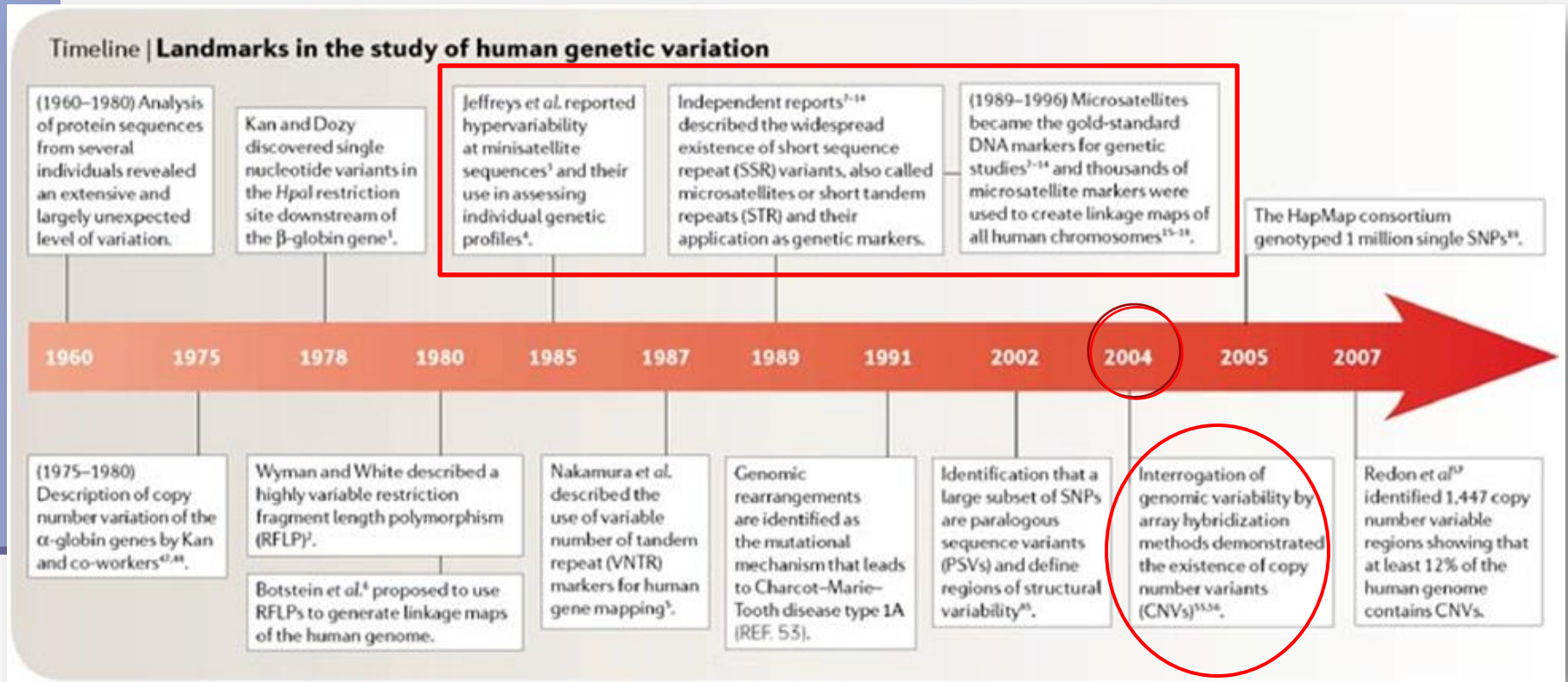


CGH probes
Copy Number Changes

SNP probes
LOH/UPD



Array-CGH a objev nové genomové variability - CNVs – variabilní počet kopií



Segmenty DNA vyskytující se v různém počtu kopií

2004 – objev CNVs u zdravých jedinců pomocí array-CGH !

CNVs v lidském genomu – první informace

Detection of large-scale variation in the human genome

A John Iafrate^{1,2}, Lars Feuk³, Miguel N Rivera^{1,2},
Marc L Listewnik¹, Patricia K Donahoe^{2,4}, Ying Qi³,
Stephen W Scherer^{3,5} & Charles Lee^{1,2,5}

We identified 255 loci across the human genome that contain genomic imbalances among unrelated individuals. Twenty-four variants are present in > 10% of the individuals that we examined. Half of these regions overlap with genes, and many coincide with segmental duplications or gaps in the human genome assembly. This previously unappreciated heterogeneity may underlie certain human phenotypic variation and susceptibility to disease and argues for a more dynamic human genome structure.

Iafrate et al 2004 Nat Genet 36: 949

Large-Scale Copy Number Polymorphism in the Human Genome

Jonathan Sebat,¹ B. Lakshmi,¹ Jennifer Troge,¹ Joan Alexander,¹
Janet Young,² Pär Lundin,³ Susanne Månér,³ Hillary Massa,²
Megan Walker,² Maoyen Chi,¹ Nicholas Navin,¹ Robert Lucito,¹
John Healy,¹ James Hicks,¹ Kenny Ye,⁴ Andrew Reiner,¹
T. Conrad Gilliam,⁵ Barbara Trask,² Nick Patterson,⁶
Anders Zetterberg,³ Michael Wigler^{1*}

The extent to which large duplications and deletions contribute to human genetic variation and diversity is unknown. Here, we show that large-scale copy number polymorphisms (CNPs) (about 100 kilobases and greater) contribute substantially to genomic variation between normal humans. Representational oligonucleotide microarray analysis of 20 individuals revealed a total of 221 copy number differences representing 76 unique CNPs. On average, individuals differed by 11 CNPs, and the average length of a CNP interval was 465 kilobases. We observed copy number variation of 70 different genes within CNP intervals, including genes involved in neurological function, regulation of cell growth, regulation of metabolism, and several genes known to be associated with disease.

Sebat et al 2004 Science 305: 525

Variabilní počet kopií (CNVs) - příklady



Variabilní počet kopií (CNVs) - segmenty DNA větší než 1 kb přítomné ve variabilním počtu kopií v porovnání s referenčním genomem

A copy number variation map of human genome

(Database of Genomic Variants (DGV))

Copy number variation measures	All variants		Gains		Losses	
	Inclusive map	Stringent map	Inclusive map	Stringent map	Inclusive map	Stringent map
Total genome variable (%)*	9.5	4.8	3.9	2.3	7.5	3.6
Total genome variable (Mb)	273	136.6	111.5	64.7	215	102.4
Median interval length of CNVRs (bp)	981	1,237	3,334	9,741	956	1,137
Mean interval length of CNVRs (bp)	11,362	11,647	35,581	55,370	9,181	8,883
Number of CNVRs	24,032	11,732	3,132	1,169	23,438	11,530

CNVR, copy number variable region. *Numbers listed are based on the upper boundary size estimates of CNVRs. Average boundary sizes of the total genome include: all variants in the inclusive map (8.8%) and stringent map (4.1%), gains in the inclusive map (3.5%) and stringent map (1.9%), and losses in the inclusive map (6.9%) and stringent map (3.1%).

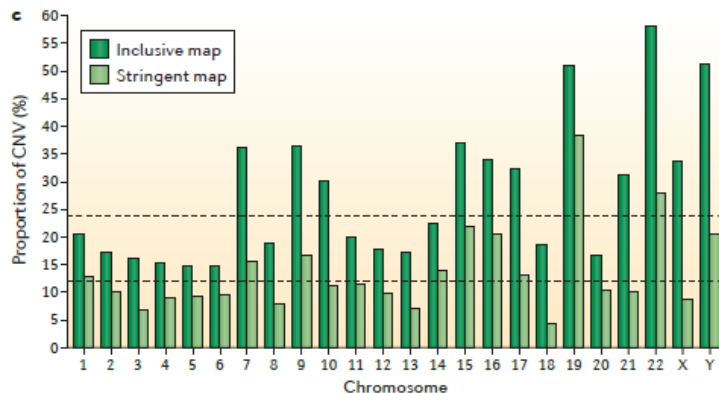


Figure 1 | Proportion of each human chromosome that is copy number variable based on the inclusive and stringent maps. Copy number variation (CNV) gains for each chromosome (part a), CNV losses for each chromosome (part b), and CNV gains and losses for each chromosome (part c) are shown. The horizontal dashed lines indicate the genome average for the inclusive map (upper line) and the stringent map (lower line). Assembly gaps, including centromeres and heterochromatic regions, were not included in the calculation of variable proportions. The y axes indicate the percentage of nucleotides of each chromosome that may be involved in CNV.

- cca 100 genes can be completely deleted !

Variabilní počet kopií - význam

- CNVs – variabilní počet kopií ovlivňuje 4,8–9,5% genomu člověka !

Význam:

- variabilita lidského genomu (fenotypu)



- **polymorfismus** – genetická diverzita mezi jedinci
- **evoluce**
- **genomová onemocnění**

CNVs a nový pohled na variabilitu lidského genomu

Sequence variation

- Single nucleotide
 - Base change – substitution – point mutation
 - Insertion-deletions (“indels”)
 - SNPs – tagSNPs

- 2 bp to 1,000 bp
 - Microsatellites, minisatellites
 - Indels **1-20 bp**
 - Inversions
 - Di-, tri-, tetranucleotide repeats
 - VNTRs

- 1 kb to submicroscopic
 - Copy number variants (CNVs)
 - Segmental duplications
 - Inversions, translocations
 - CNV regions (CNVRs)
 - Microdeletions, microduplications

Structural variation

- Microscopic to subchromosomal
 - Segmental aneusomy
 - Chromosomal deletions – losses
 - Chromosomal insertions – gains
 - Chromosomal inversions
 - Intrachromosomal translocations
 - Chromosomal abnormality
 - Heteromorphisms
 - Fragile sites

- Whole chromosomal to whole genome
 - Interchromosomal translocations
 - Ring chromosomes, isochromosomes
 - Marker chromosomes
 - Aneuploidy
 - Aneusomy
 - Term defined or discussed in **Box 1**

Molecular genetic detection



Spektrum genetické variability člověka

sekvenční x strukturní



CNVs



Cytogenetic detection

Genetická variabilita u člověka a SNP

Single nucleotide polymorphisms
(SNPs)

GATTAGATC**G**CGATAGAG
GATTAGATC**T**CGATAGAG

0.1% difference among
people

1/1000 pb
cca 10 miliónů



Variabilita lidského genomu - CNVs mají větší význam než SNP !

ARTICLE

OPEN

doi:10.1038/nature15393

A global reference for human genetic variation

The 1000 Genomes Project Consortium*

The 1000 Genomes Project set out to provide a comprehensive description of common human genetic variation by applying whole-genome sequencing to a diverse set of individuals from multiple populations. Here we report completion of the project, having reconstructed the genomes of 2,504 individuals from 26 populations using a combination of low-coverage whole-genome sequencing, deep exome sequencing, and dense microarray genotyping. We characterized a broad spectrum of genetic variation, in total over 88 million variants (84.7 million single nucleotide polymorphisms (SNPs), 3.6 million short insertions/deletions (indels), and 60,000 structural variants), all phased onto high-quality haplotypes. This resource includes >99% of SNP variants with a frequency of >1% for a variety of ancestries. We describe the distribution of genetic variation across the global sample, and discuss the implications for common disease studies.

Nature 256, October 2015

**osekvenování
2504 genomů člověka z různých
oblastí....(26 populací)**

- typical genome differs from the reference human genome at **4.1 million to 5.0 million sites**
- although 99.9% of variants consist of SNPs and short indels, **structural variants affect more bases:** the typical genome contains an estimated **2,100 to 2,500 structural variants:**
- cca 1,000 large deletions, 160 copy-number variants, 915 Alu insertions, 128 L1 insertions, 51 SVA insertions, 4 NUMTs and 10 inversions affecting **cca 20 million bases of sequence !**

Význam CNVs v evoluci hominidů

Evolution and diversity of copy number variation in the great ape lineage

Peter H. Sudmant,¹ John Huddleston,^{1,2} Claudia R. Catacchio,³ Maika Malig,¹ LaDeana W. Hillier,⁴ Carl Baker,¹ Kiana Mohajeri,¹ Ivanela Kondova,⁵ Ronald E. Bontrop,⁵ Stephan Persengiev,⁵ Francesca Antonacci,³ Mario Ventura,³ Javier Prado-Martinez,⁶ Great Ape Genome Project,⁷ Tomas Marques-Bonet,^{6,8} and Evan E. Eichler^{1,2,9}

Great Ape Genome Project



- osekvenován genom 97 lidoopů (orangutan, gorila, šimpanz)
- 469 Mb pokryto CNVs vs. 167 Mb SNP
- **3x větší počet pb ovlivněn CNVs než SNP !**
- **nalezeno celkově 340 delecí a 450 duplikací genů**
- **13,5 Mb sekvencí, které se nevyskytují v lidském genomu**

CNVs a genomová onemocnění

Genomová onemocnění u člověka

- od poč. 21. století dochází ke změně pohledu na příčinu některých genetických onemocnění...
- **genocentrický vs. genomický přístup**



Četnosti:

- **CNVs - genomová onemocnění (genomic disorders) -**
 1.7×10^{-6} to 1.0×10^{-4} per locus per generation
- onemocnění vzniklá bodovými mutacemi - $1.8-2.5 \times 10^{-8}$
per base pair per generation

Genomová onemocnění u člověka vznikají **1000 až 10 000** **častěji** než onemocnění vyvolaná bodovými mutacemi !

CNVs a genomová onemocnění

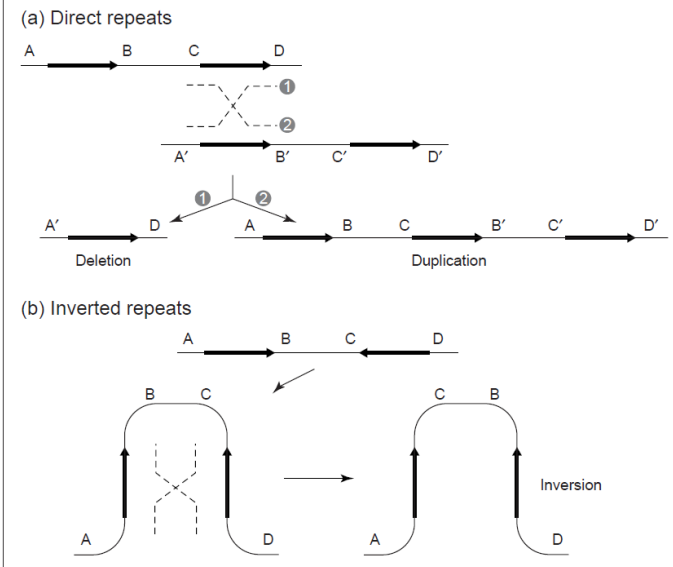
Trends in
Genetics

Cell
PRESS

Volume 14, Issue 10, 1 October 1998, Pages 417–422

Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits

James R Lupski



Genomic rearrangements resulting from **recombination between repeated** sequences.

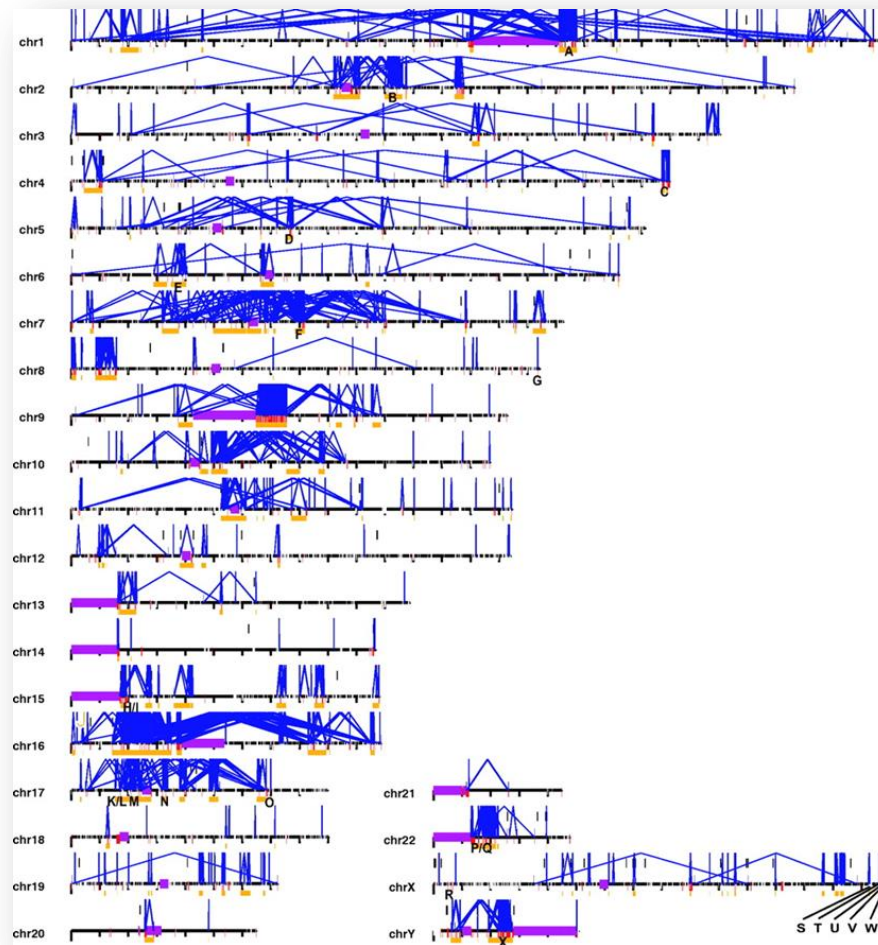
Genomové choroby
(genomic disorders) –
**onemocnění vznikající v
důsledku přestaveb genomu
způsobujících zisky či ztráty
genů (CNVs)**

Evolve lidského genomu -
duplikace genů, genových
segmentů a repetitivních sekvencí




Tato architektura genomu vytváří
vhodné podmínky pro **homologní
rekombinaci**, při níž může
docházet k přestavbám
chromozomů (NAHR)

Rozložení intrachromozomálních a interchromozomálních SDs (≥ 10 kb; $\geq 95\%$) v genomu



Lidský genom je náchylný k strukturní variabilitě v důsledku existence SDs !

- **SDs – až 8000** substrát pro **nealelickou homologní rekombinaci** – (NAHR) 
nerovnoměrný crossing-over
- divergence genomu
- **genomová onemocnění**

Nerovnoměrný crossing-over, duplikace genu a mutace Bar u drozofily

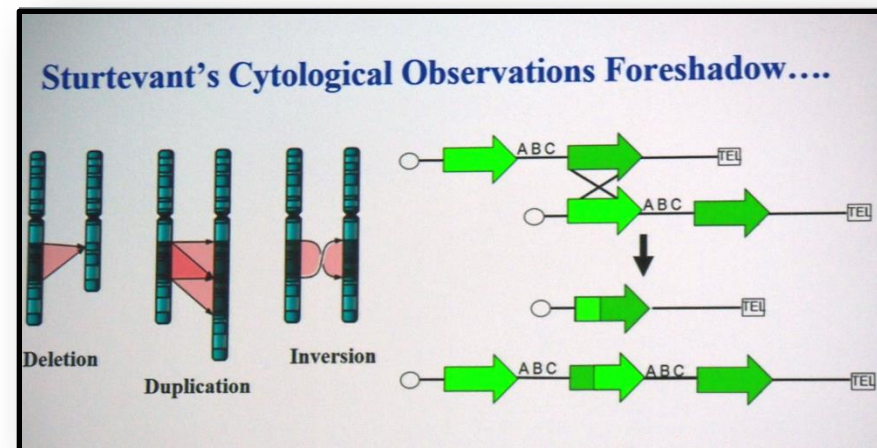
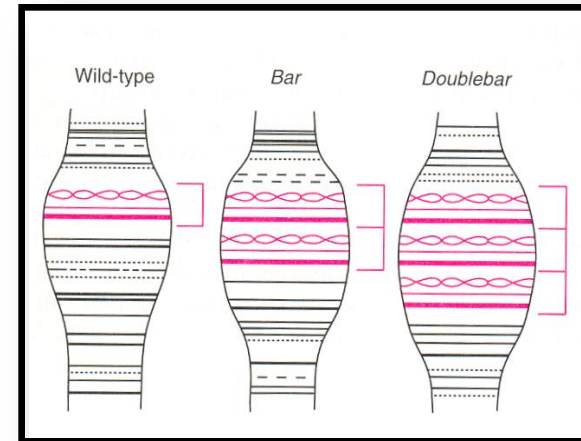
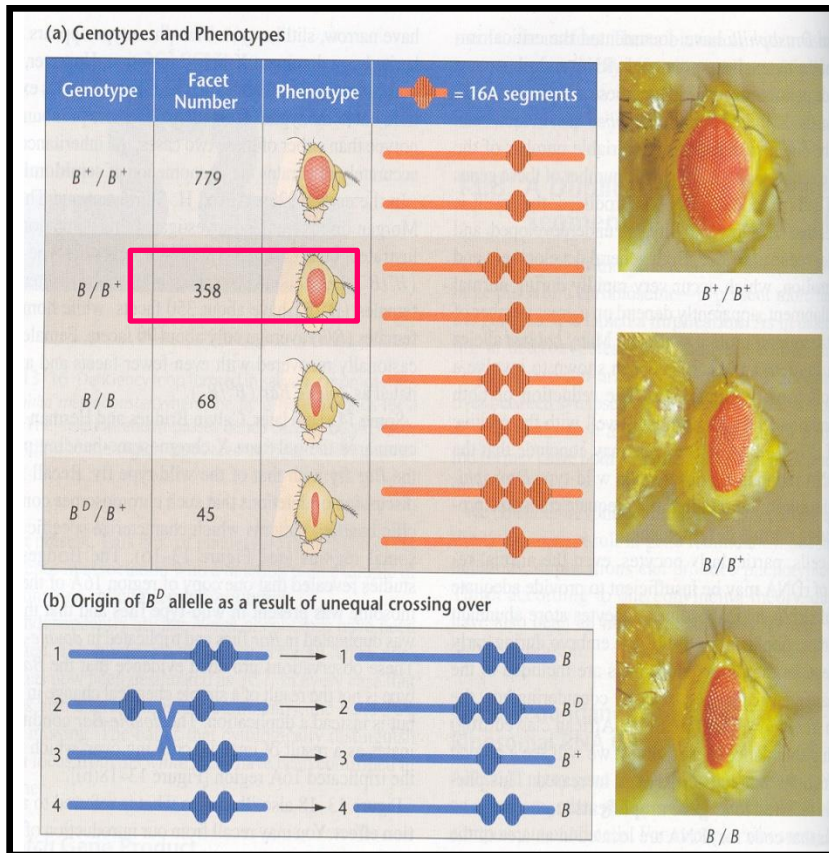
Alfred Sturtevant



“Crossing over has proved to be the key to the mutation behavior of bar.....The case appears not to be, strictly speaking, a point-mutation after all, but a new kind of **section-mutation**.....in which **unequal crossing over furnishes the mechanism** for bringing about the new types”

Sturtevant, *Genetics*, 1925

Duplikace Bar u *Drosophily* B^+, B ovlivňuje počet facet u složených očí

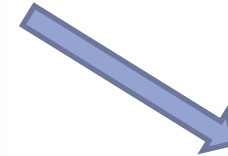


CNVs a příklady genomových onemocnění

Table 2 Examples of copy number variations (CNVs) and conveyed genomic disorders^a

Phenotype	OMIM	Locus	CNV	References ^a
Mendelian (autosomal dominant)^b				
Williams-Beuren syndrome	194050	7q11.23	del	S4
7q11.23 duplication syndrome	609757	7q11.23	dup	S62
Spinocerebellar ataxia type 20	608687	11q12	dup	S30
Smith-Magenis syndrome	182290	17p11.2/ <i>RAI1</i>	del	S13
Potocki-Lupski syndrome	610883	17p11.2	dup	S49
HNPP	162500	17p12/ <i>PMP22</i>	del	S11
CMT1A	118220	17p12/ <i>PMP22</i>	dup	S41
Miller-Dieker lissencephaly syndrome	247200	17p13.3/ <i>LIS1</i>	del	S10, S50
Mental retardation	601545	17p13.3/ <i>LIS1</i>	dup	S6
DGCS/VCFS	188400/192430	22q11.2/ <i>TBX1</i>	del	S16, S55
Microduplication 22q11.2	608363	22q11.2	dup	S17, S47, S75
Adult-onset leukodystrophy	169500	<i>LMNB1</i>	dup	S48
Mendelian (autosomal recessive)				
Familial juvenile nephronophthisis	256100	2q13/ <i>NPHP1</i>	del	S31, S53
Gaucher disease	230800	1q21/ <i>GBA</i>	del	S5
Pituitary dwarfism	262400	17q24/ <i>GHI</i>	del	S9, S24
Spinal muscular atrophy	253300	5q13/ <i>SMN1</i>	del	S43, S51
beta-thalassemia	141900	11p15/ <i>beta-globin</i>	del	S29
alpha-thalassemia	141750	16p13.3/ <i>HBA</i>	del	S25
Mendelian (X-linked)				
Hemophilia A	306700	<i>F8</i>	inv/del	S2
Hunter syndrome	309900	<i>IDS</i>	del/inv	S8, S70, S72
Ichthyosis	308100	<i>STS</i>	del	S56
Mental retardation	300706	<i>HUWE1</i>	dup	S21
Pelizaeus-Merzbacher disease	312080	<i>PLP1</i>	del/dup/tri	S14, S28, S37, S38, S71
Progressive neurological symptoms (MR+SZ)	300260	<i>MECP2</i>	dup	S3, S15, S65
Red-green color blindness	303800	opsin genes	del	S46
Complex traits				
Alzheimer disease	104300	<i>APP</i>	dup	S52
Autism	612200	3q24	inherited homozygous del	S45
	611913	16p11.2	del/dup	S34, S42, S54, S68
Crohn disease	266600	<i>HBD-2</i>	copy number loss	S20
	612278	<i>IRGM</i>	del	S44
HIV susceptibility	609423	<i>CCL3L1</i>	copy number loss	S23, S33
Mental retardation	612001	15q13.3	del	S58
	610443	17q21.31	del	S32, S57, S59
	300534	Xp11.22	dup	S21
Pancreatitis	167800	<i>PRSS1</i>	tri	S36
Parkinson disease	168600	<i>SNCA</i>	dup/tri	S12, S19, S22, S27, S61

(Continued)

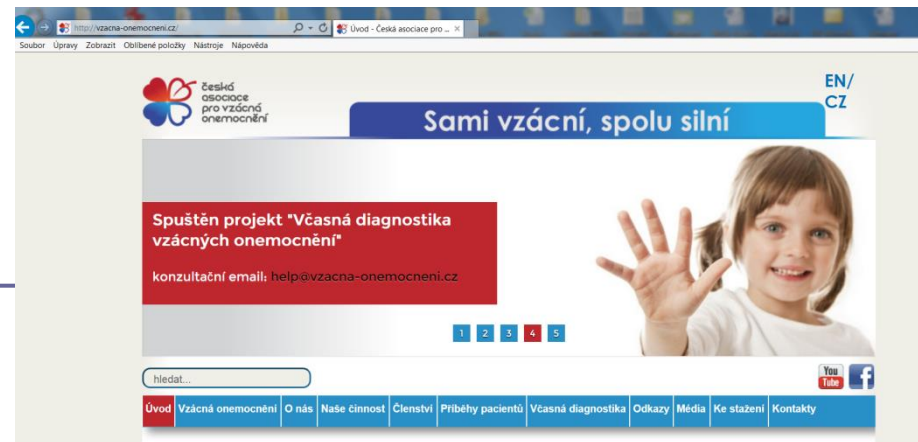


Mikrodeleční/mikroduplikační syndromy...

pacienti s PMR, autismem, schizofrenií, obezitou, epilepsií...

**Vzácná chromozomová onemocnění
(1 : 4 000 – 15 000)**

Genetické choroby vzácná onemocnění



- Onemocnění je v rámci EU definováno jako vzácné, pokud postihuje méně než 5 osob z každých 10 000, **(tj. méně než 1 pacienta na 2 000 jedinců)**. Existuje více **než 8 000** různých vzácných onemocnění, což znamená, že souhrnný počet pacientů je nezanedbatelný.
- Vzácná onemocnění se nejčastěji projevují brzy po narození a postihují 4-5 % novorozenců a kojenců (například některé vrozené vývojové vady, dědičné poruchy metabolismu, **geneticky podmíněná onemocnění a vzácné nádory**). Mohou se však projevit i později v průběhu dětství či v dospělosti.
- **Asi 80% vzácných onemocnění má genetické původ**, nicméně u většiny pacientů zůstává příčina jejich choroby neodhalena.

**CNVs a mikródeleční
syndromy
rekurentní CNVs**

Mikrodeleční/mikroduplikační syndromy

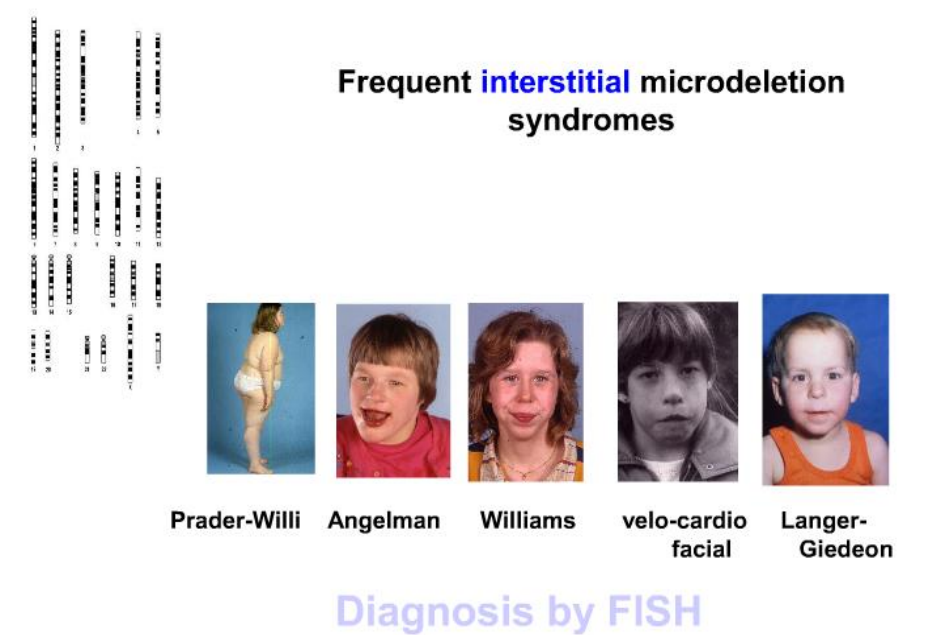
- skupina geneticky podmíněných chorob, jejichž příčinou jsou drobné delece DNA segmentů (2-4 Mb), které nejsou detekovatelné klasickými cytogenetickými metodami
- pacienti mají specifické klinické příznaky
- častý výskyt MR (mentální retardace)
- **nebalancované chromozomové přestavby - patogenní CNVs**
- **rekurentní (mikrodelece vznikají ve stejném místě na chromozomu)**
- **nerekurentní – mohou vzniknout kdekoliv v genomu**

Nejčatější rekurentní mikrodelece - některé rozpoznatelné fenotypy – syndromy - „phenotype first“

Obecné příznaky:

- růstová retardace
- dysmorfismus
- stigmata
- mentální retardace
- malformace
- cca 20 od roku 2006

Frequent **interstitial** microdeletion syndromes



Prader-Willi Angelman Williams velo-cardiofacial Langer-Giedeon

Diagnosis by FISH

Mikrodeleční syndrom	Lokalizace	Nejčastější velikost přestavby [kb]	Četnost v populaci
DiGeorgeův syndrom/ Velokardiofaciální syndrom	22q11	3 000	1:4 000
Williamsův-Beurenův syndrom	7p11.23	2 000	1:10 000
Smith-Magenisův syndrom	17p11.2	5 000	1:25 000
Prader-Williho syndrom/ Angelmanův syndrom	15q11-q13	4 000	1:25 000

Mechanismus vzniku rekurentních mikrodelečních/duplikačních syndromů při meióze – nealelická homologní rekombinace

Architektura genomu - LCR či SDs spojená s delecemi/duplikacemi:

NAHR
Non Allelic
Homologous
Recombination

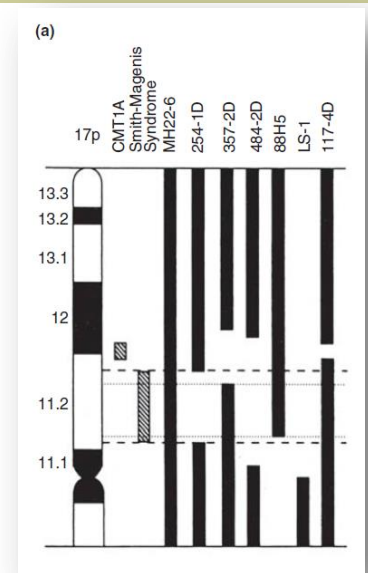
sekvenční homologie >95%, oddělené 50 kb -10 Mb úsekem DNA, v přímé orientaci

TABLE 3 Known characteristics of low copy, region-specific repeat sequences (LCRs) in the human genome

Rearrangement	Syndrome	Size of repeats (kb)	Distance between repeats (Mb)
del(7)(q11.23q11.23)	Williams	320	1.6
del(15)(q12q12)	Prader-Willi/Angelman	400	3.5
del or dup(17)(p11.2p11.2)	Smith-Magenis	250–400	5.0
del or dup(17)(p12p12)	CMT1A /HNPP	24	1.5
del(17)(q11.2q11.2)	Neurofibromatosis I	15–100	1.5
del(22)(q11.2q11.2)	DiGeorge/velocardiofacial	200	3.0

Rekurentní mikodelece/duplikace 17p jako model pro genomové choroby

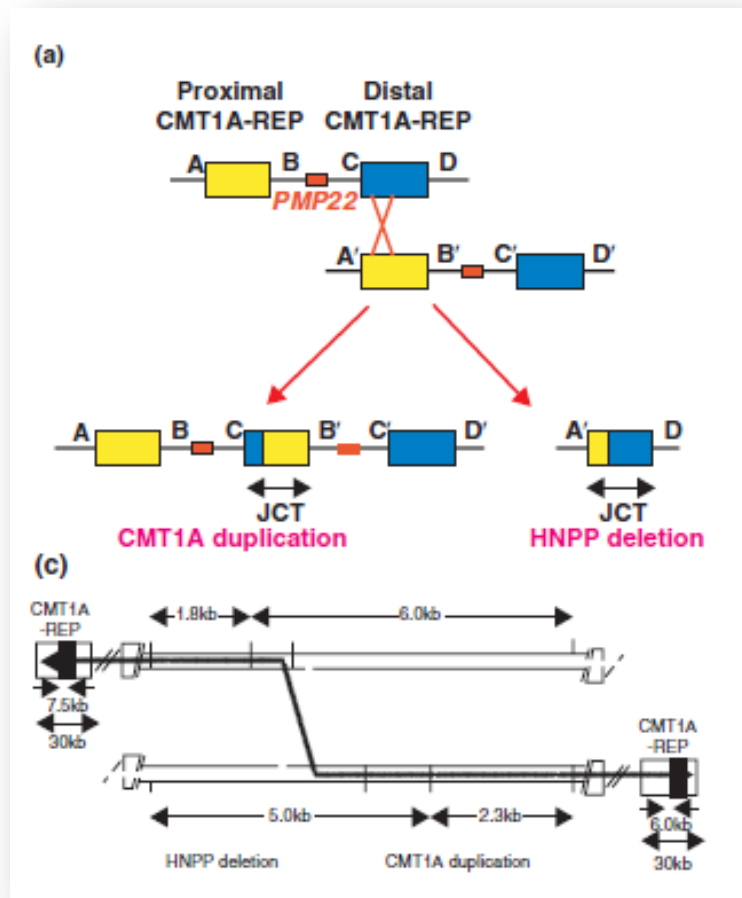
- oblast chromozomu 17p obsahuje 7,5 Mb dlouhý úsek bohatý na LCR
- častý výskyt NAHR....
- reciproké mikroduplikace /mikrodelece chromozomu 17p11.2p12 způsobují 4 genetická onemocnění:



- Charcot-Marie-Tooth** typ 1A - mikroduplikace genu *PMP22*
- hereditární neuropatie s tendencí k tlakovým parézám** - mikrodelece genu *PMP22*
- Smith-Magenisův syndrom** - mikrodelece genu *RAI1*
- Potockého-Lupského syndrom** - mikroduplikace *RAI1*



Reciproká rekombinace jako příčina CMT1A a hereditární neuropatie



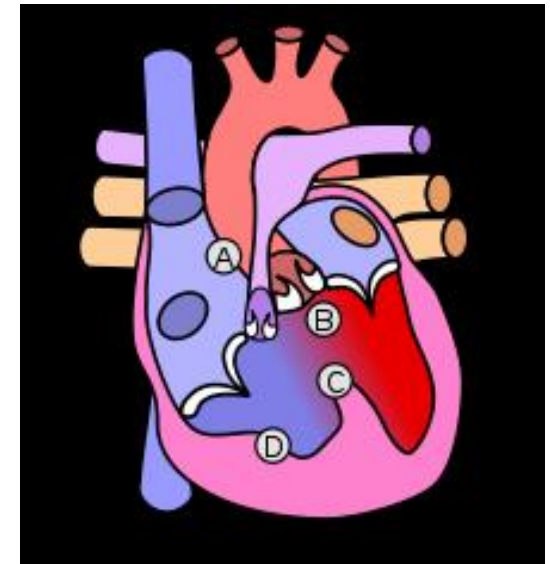
Mikrodelece 22q11

DiGeorgeův/VCFS syndrom

- pacienti s mikrodelecí se vyskytují v populaci s četností 1: 4000 až 1: 6000 živě narozených dětí

- Velo - Kardio- Faciální syndrom
- CATCH 22

- typické vrozené srdeční vady
- (zjišťují se i prenatálně !)
- faciální dysmorfie
- hypoplasie - aplasie brzlíku (gen Tbx1)
event. příštítných tělísek -
nedostatek vápníku, křeče
- imunodefekty
(absence T-lymfocytů)



Fallotova tetralogie: A: stenóza plicnice
B: dextropozice aorty C: defekt komorového
septa D: hypertrofie pravé komory

CATCH 22 - del(22)(q11)

- **C**ardiac defect – typické srdeční vady
- **A**bnormal facies – brada
- **T**hymic hypoplasia – poruchy imunity, infekce
- **C**left palate - roštěp
- **H**ypocalcemia - křeče

- 75 % pacientů - delece 22q11
- výjimečně – delece **10p**
- (DiGeorge II)

Ukázka pacientů s VCFS prominující brada, výrazný nos



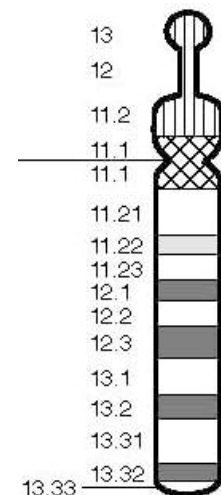
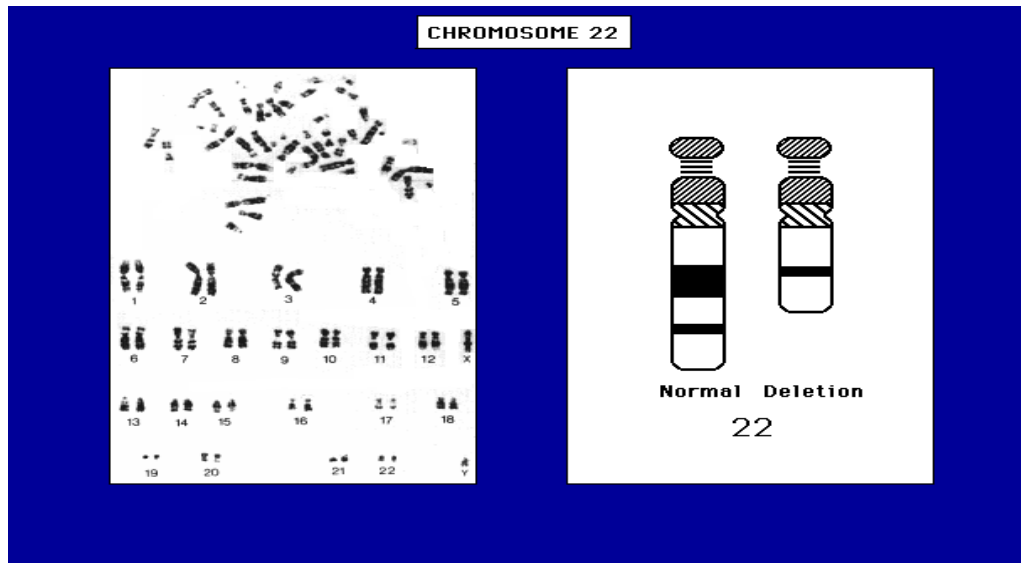
Mikrodelece 22q11

DiGeorgeův/VCFS syndrom – vyšetřovací metody

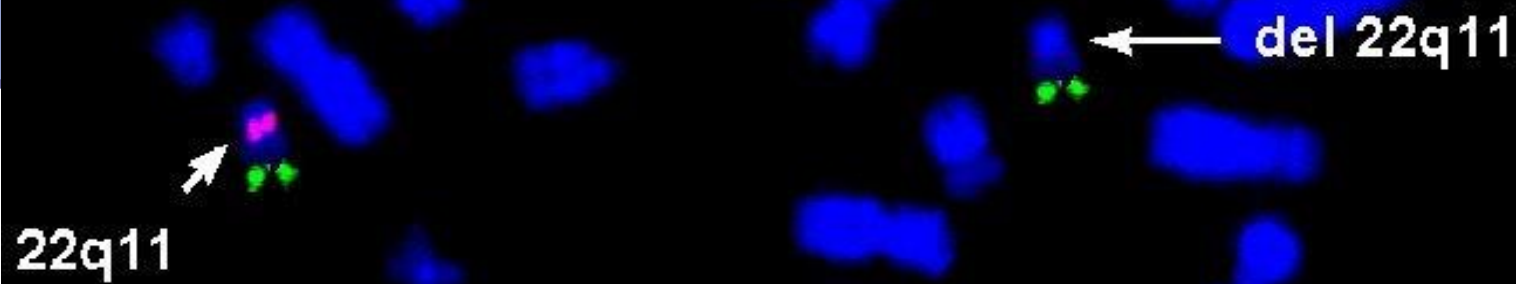
- přibližně 90 % probandů má *de novo* delecii 22q11, asi u 6% se jedná o familiární přenos

Vyšetření:

- a) vyšetření karyotypu – G-pruhování
- b) cílené vyšetření mikrodelece 22q11 – FISH, MLPA
- c) rozšířené vyšetření pomocí DNA mikročipů



DiGeorge syndrom

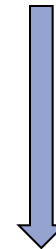


Klinické projevy CATCH 22 – variabilní expresivita

Popsáno celkem až 180 různých příznaků, velká variabilita...?

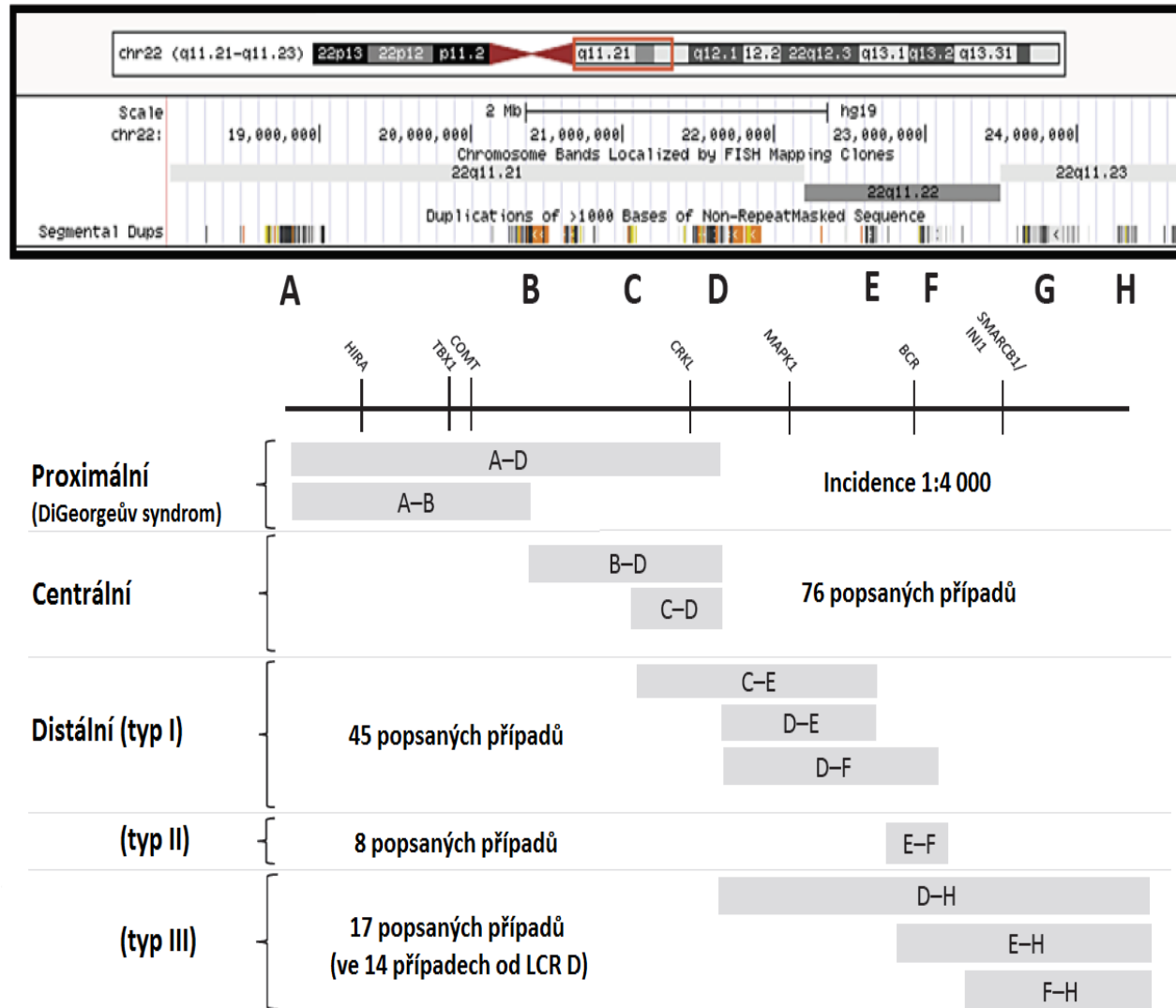
Frekvence jednotlivých typů vrozených vad :

75%	vývojové srdeční vady
60%	hypokalcémie
49%	otolaringologické malformace (9% rozštěp patra, 32% velofaryngeální insuficience)
38%	poruchy vývoje psychomotoriky
36%	konstitučně nízký vzrůst pod 3 percentil
36%	urogenitální anomálie
17%	malé anomálie kostry
8%	letalita do 6. měsíců věku postnatálně
8%	neurologické anomálie



- **rozsah a umístění mikrodelece (chybí 20-60 genů)**
- **haploinsuficience**
- **teorie II. zásahu**
- **genetické pozadí**

Mikrodelece mohou být různě umístěné...



Korelace mezi genotypem a fenotypem - postižení pacientů s mikrodelecí oblasti 22q11

- **Mikrodelece proximální** (*HIRA, TBX1, COMT*) – imunodeficience, kardiovaskulární vady, abnormality patra, poruchy řeči, hypotonie, mentální retardace a vývojové opožďování, hypokalcémie, psychiatrické onemocnění a faciální stigmata
- **Mikrodelece centrální** (*CRKL*) – nízký vzrůst, vývojové opožďování, mentální retardace, poruchy řeči a faciální stigmata, **od proximální mikrodelece se liší významně nižším výskytem imunodeficiencí, hypotonie, abnormalit patra a poruch chování**
- **Mikrodelece distální** (typ I. - *MAPK1/ERK2*, typ III. - *SMARCB1*)
 - Typ I. – faciální stigmata, nízký vzrůst, kardiovaskulární vady, abnormality kostry a vývojové opožďování, **prematurita (polovina případů)**
 - Typ II. – vývojové opožďování, faciální stigmata, mentální retardace a poruchy řeči
 - Typ III. – **rhabdoidní tumory**, opožďování vývoje, kardiovaskulární vady a faciální stigmata

Rozsah mikrodelece 22q11 u 24 pacientů vyšetřených na OLG FN Brno

Obrázek č. 9: Grafické porovnání výsledků aCGH u pacientů s DiGeorgeovým syndromem

Pod schématickým znázorněním chromozomu 22 (červeně je označena zobrazená oblast) jsou uvedeny geny přispívající k patogenezi. Pod nimi jsou uvedeny geny lokalizované v této oblasti. Barva genu je závislá na skóru haploinsuficience (škála skóre haploinsuficience je od červeně s vysokým skórem po zelenou s nízkým skórem). Zelené obdélníky označují oblasti LCR A, B, C a D (Mikhail et al., 2014). Červené obdélníky označují jednotlivé pacienty.



Chr – chromozom; Mb – megabáze

CNVs a mentální retardace

Mentální retardace (MR)

Heterogenní manifestace dysfunkce CNS charakterizovaná signifikantně podprůměrnými intelektuálními funkcemi

Mírná MR (IQ 50 – 70)

Střední MR (IQ 35 – 50)

Těžká MR (IQ 20 – 35)

(Battaglia et al.. 1999)



Postihuje 2 až 3 % populace,

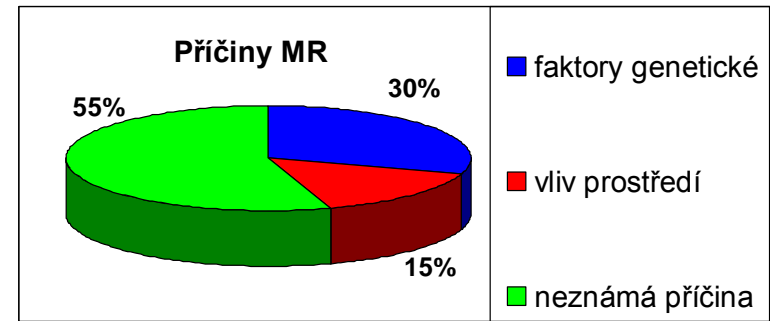
Často doprovázena růstovou retardací, opožděním vývoje, faciální dysmorfii aj.

Poměr pohlaví **2M:1F** !

Příčiny mentálních retardací

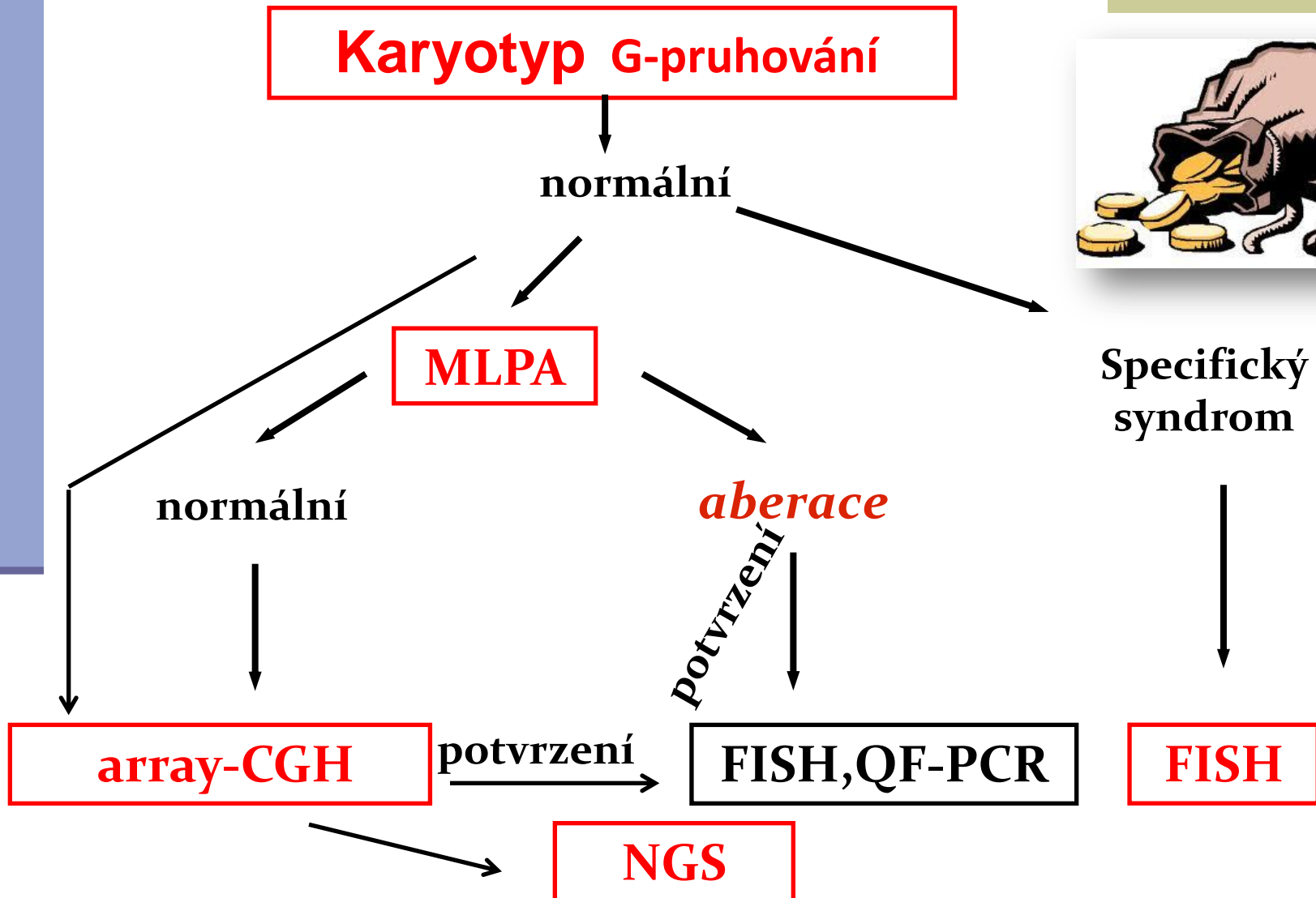
- **komplexní etiologie**; asi u 50 % případů nelze zjistit kauzální příčinu (narušení vývoje mozku)

- **negenetické příčiny**
- **genetické příčiny**



- **monogenní choroby** (metabolické: fenylketonurie, galaktosemie)
- **choroby s nemendelistickým typem dědičnosti** (syndrom Fragilního X)
- **choroby způsobené chromozomovými aberacemi:**
 - **početní:**
 - +21 (Downův sy), +18 (Edwardův sy), +13 (Pataův sy), aberace pohlavních chromozomů XXY, XXX, XYY
 - **strukturní:**
 - rozsáhlé balancované i nebalancované přestavby
 - CNV** - známé mikrodelece/mikroduplikace (PWS/AS, DGS aj.)
 - další **submikroskopické změny chromozomů** (delece, duplikace, inverze)

Současný algoritmus genetického vyšetření pacientů s PMR na OLG FN Brno



Celkový přehled vyšetření pacientů s PMR na OLG FN Brno v letech 2007-2015

- Celkově **275** vyšetření pomocí array-CGH

- 144 chlapců, 131 dívek

- 164 vyšetření s normálním karyotypem

- 111 vyšetření s pozitivním nálezem, tj. 40,4 %

- 51 patogenních nálezů **CNVs**

- = **18,5 %** ze všech vyšetření

- 10 nálezů nejasného významu

- 36 benigních nálezů

- 15 nálezů dosud nedošetřeno



Patogenní CNVs detekované pomocí DNA mikročipů u dětí s PMR

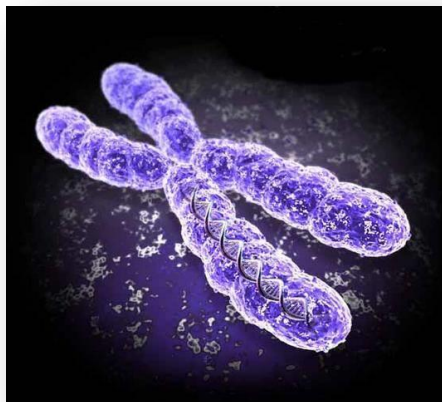
del 17q11.2-q12	7,25 Mb	mikrodeleční sy.	dup 22q11.21	2,91 Mb	mikroduplikační sy.
del Xq22.3-q23	3 Mb		dup 16p12.3-p13.12	3,40 Mb	16p13.11 rekurentní mikroduplikace
del 1q21.1	334 kb	mikrodeleční sy.	dup 2q12.1-q13	8,98 Mb	
del 9q34.3-qter	1,70 Mb	9q deleční sy.	dup 15q11.2-q13.1	4,87 Mb	mikroduplikační sy.
del 11q24.1-q25	10,69 Mb		mnohočetná LOH		konsanguinita rodičů
del 9q34.11	891 kb		del 12p13.31-p13.32	5,23 Mb	nebalancovaná translokace
del 7q11.23 (2x)	1,41 Mb	Williams-Beuren sy.	dup 18p11.21-p11.32	14,83 Mb	
del 7q11.23-q21.1	3,66 Mb		del X/r(x)		karyotyp 45,X/46,X,r(X)
dup 17q12 (2x)	1,58 Mb	mikroduplikační sy.	del 17p13.3	1,35 Mb	nebalancovaná translokace
del 15q11.1-q13.1	8,47 Mb	PWS/AS	dup 22q13.2-q13.33	7,57 Mb	
del 5q14.3-q15	5,84 Mb	mikrodeleční sy.	del 8p23.1-p23.3	10,11 Mb	8p23 deleční sy.
del 1q23.3-q24.2	6,19 Mb		del 22q12.3-q13.1	1,67 Mb	Waardenburgův sy.
dup 17p13.3	2,40 Mb	nebalancovaná translokace	dup 2p25.1-p25.3	9,40 Mb	nebalancovaná translokace
del 22q13.32	1,89 Mb		del 5p15.33	2,05 Mb	
del 18p11.21-p11.32	14 Mb	18p deleční sy.	dup 16p11.2	544 kb	mikroduplikační sy.
dup 14q32.2-q32.33	10,52 Mb		dup 1q21.1-q21.2	3,50 Mb	mikroduplikační sy.
del 4q13.32-q21.22	16,14 Mb		del 1q21.1-q21.2	2,78 Mb	mikrodeleční sy.
del 3p25.3-p26.3 (2x)	9,60 Mb	nebalancovaná translokace	del 2p11.1-p11.2	3,92 Mb	
dup 18p11.21-p11.32	8,29 Mb		dup 18p11.21-p11.32	14,87 Mb	
mnohočetná LOH (2x)	sourozenci	konsanguinita rod.	dup 18q11.1-q12.1	7,61 Mb	karyotyp 46,XX,der(18)
del 13q14.13-q22.3	31,03 Mb		del 18q22.2-q23	10,99 Mb	
del 22q11.21-q11.22	1,43 Mb	distální 22q11.2 mikrodelece	del 1q43-q44	1,73 Mb	mikrodeleční sy.
dup 1q21.1-q21.2	1,67 Mb	mikroduplikační sy.	del 16p11.2	534 kb	mikrodeleční sy.
del 9q22.3-q31.3	6,20 Mb		dup 2q11.1-q11.2	1,27 Mb	
LOH na chr. 1q, 11q, 19q		konsanguinita rodičů	dup Xp21.1	171 kb	gen DMD
del 1q43-q44	4,68 Mb	mikrodeleční sy.	dup 20p11.1-p13	22,10 Mb	karyotyp 47.XY,+r(20)/46.XY
UPD chromosomu 16			dup 20q11.21	942 kb	

Cytogenetika 60. let po spočítání lidských chromozomů

I přes stále větší rozvoj moderních genomických technik (NGS) zůstává

cytogenetika

stále jedním z nosných pilířů moderních vyšetřovacích metod využívaných v oblasti lékařské genetiky a dalších medicínských oborů



Děkuji za pozornost !!!

