

Genetika v neurologii

Neurologie v genetice

Renata Gaillyová

LF 2006

Možnosti genetického poradenství

- Spolupráce při diff. diagnostice
- Informace rodin o genetickém riziku
- DNA diagnostika - přímá i nepřímá
- Informace o primární a sekundární prevenci
- Informace o možnostech prenatální dg.
- Prenatální diagnostika
- Vyhledávání osob v riziku, vyhledávání přenašečů (AR) a přenašeček (XR)
- Presymptomatické testy

DNA analýza

- Detekce mutací-potvrzení dg. na molekulární úrovni
- Zjištění nositelů pathol. formy genů
- Vyhledávání asymptomatických přenašečů
- Vyhledávání přenašeček X vázaných onemocnění
- Testování predispozice ke genet. onemocnění
- Prenatální vyšetření
- Rychlá detekce pohlaví

Materiál pro DNA / RNA analýzu

- Krev + EDTA - sterilně, řádně protřepat, nemrazit, + 4st. C, převoz v ledové lázni
- RNA - nutné okamžité zpracování, nelze transportovat
- Suchá kapka krve - sterilně, separovaně
- Tkáň - sval. biopsie, kožní biopsie
- Parafinové bločky
- Vlasy,.....

Neurologická onemocnění a genetické poradenství

- Nervosvalová onemocnění
- Onemocnění CNS
- Vrozené vývojové vady CNS
- Poruchy mentálních funkcí
- Poruchy chování

Svalové dystrofie

Duchenne	XR
Becker	XR
Emery-Dreifuss	XR
Duchenne like	AR
Limb-girdl- Erb	AR
Cong. Musk. Dystr.	AR
Facioscapulohumer	AD
Distal	AD
Oculopharyngeal	AD
Adult-limb-girdl	AD
Myotonic. Dystr.	AD (+anticipace)

Duchenneova/Beckerova svalová dystrofie (D/BMD)

- Xp21, asi 60% - velké delece
- Klinika
- UZ svalů
- Biochemie
- EMG
- Genetické poradenství
- DNA analýza, FISH-delece, RNA analýza, prevence, vyhledávání osob v riziku, prenatální dg.
- Svalová biopsie, imunohistochemie

Možnosti vyšetření pacientů DMD/BMD

- přímá DNA analýza genu pro dystrofin syntézou 19 exonů dle Abbse 1991 (oblast Pm, ex 3, 4, 6, 8, 13, 19, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 60)
- nepřímá DNA analýza s využitím intragenových polymorfních míst STR44, STR45, STR49, STR50, 5' (CA)_n, 3' (CA)_n
- RNA analýza svalové tkáně, reverzní transkripce, PCR, sekvenční analýza
- PT test
- od 2006 DHPLC u probandů bez delece a RNA

Možnosti vyšetření potenciálních přenašeček

- nepřímá DNA analýza
- mRNA ze svalové biopsie
- real time PCR využívající fluorescenčních sond a koamplifikace referenčního genu
- MLPA - vyšetření nejčastějších delecí a duplikací
- FISH delecí v genu pro dystrofin - sondy Cytocel (ex 3-6, 8, 12, 13, 17, 19, 32-34, 43, 44, 45, 46-47, 48, 50, 51, 60)

Prenatální diagnostika DMD/BMD

- volba pohlaví
- přímá DNA analýza detekce delecí genu pro dystrofin u plodu mužského pohlaví
- nepřímá DNA analýza
- FISH delecí genu pro dystrofin
- svalová biopsie plodu

Závěr

- kombinací vyšetření se zvýší úspěšnost vyhledávání potenciálních přenašeček i možnosti prenatální nebo preimplantační genetické diagnostiky
- využití DNA analýzy, MLPA a metody FISH snižuje nutnost svalové biopsie u žen
 - potenciálních přenašeček DMD / BMD

Kongenitální myopatie

Nemalin. myop.	AR nebo AD
Centronuklear	XR letal, AD. AR
Central core	AD
Cong. fibre t. dispr.	?
Cong. musk. dys.	AR, heterog.
Cong. Myotonic. d.	AD, maternální

Metabolické myopatie

mitochondriální	heterogenní
Def. cytochrom ox.	AR
Late onset +ophthalmoplegia	AD někdy
Luft type	sporad., mitochond.
Kearns- Sayre	??, větš. sporad.
Carnit. palm. t.def.	AR
Mc Ardle	AR
Jiné glykog. ,ne 8	AR

Myotonické syndromy

MD 1	AD
M.C.Thompson	AD
M.C. recesivní typ	AR
Param. Cong.	AD
Per. Par. Hypo Ca	AD
Normo Ca	AD
Schwarz-Jampel	AR

Myotonická dystrofie 1

- AD
- lokalizace 19q13,2
- Expanze tripletu CTG
- Přímá DNA diagnostika
- Široké spektrum klinických příznaků
- Kongenitální forma se závažným klinickým průběhem

Myotonická dystrofie 2

- AD
- Vzácnější typ
- Lokalizace na chromosomu 3
- Expanze CCTG
- Klinické projevy bývají mírnější
- Nemá kongenitální formu

Nemoci CNS

- Huntingtonova choroba AD
- Sclerosis multiplex
- Parkinsonismus
- Rettův syndrom XD?
- Neurofibromatosis I, II AD
- Sclerosis tuberosa AD

Huntingtonova choroba

- AD dědičnost, 4p, amplifikační mutace CAG
- nástup projevů v dospělosti
- není terapie
- diagnostické testy
- presymptomatické testy
- testy u osob s iniciálními příznaky
- asociované problémy!!!!
- genetické poradenství, protokolární postupy

Neurofibromatosa typ I

- AD, variabilní expresivita , 50% nové mutace
- lokalizace 17q, velký gen, není častější mutace ani „hot spot“ oblast
- Přímá DNA diagnostika 8 exonů, nepřímá DNA diagnostika - 2 postižení v rodě, minimální příznaky,
- RNA diagnostika celé kódující sekvence
- terapie-prevence - screeningové programy

Neurofibromatosa typ I

- Frekvence onemocnění cca 1/3000
- Lokalizace 17q11.2
- Dědičnost - autosomálně dominantní s téměř 100% penetrancí a velmi variabilní expresivitou
- Cca 50% případů jsou nové mutace
- Progredující onemocnění

NF I - klinické projevy

- Skvrny café au lait - 6 a více o průměru nad 1cm
- mnohonásobné pigmentové anomálie
- četné fibromy nebo neurofibromy, jiné intra- či subkutánní dysplastické nádory, tu podél nervových kmenů, tu jiných orgánů
- časté neurologické nebo oční poruchy
- často anomálie skeletu
- PMR asi v 10%
- makrokranie, neurofibrom víčka, zákal rohovky, Lishovy uzlíky na iris

NF I - DNA analýza

- Gen NF I - 60 exonů
- Nejsou známa místa s vyšší frekvencí mutací
- 50% onemocnění způsobeno de novo mutacemi
- Mutace v tumor - supresorovém genu

Přímá DNA analýza (OLGFN Brno)

- Přímá mutační analýza exonů 6, 12b, 16, 28, 29, 30, 31 a 37 v genu NF I pomocí vyhledávacích metod SSCP a DGGE
- V případě nálezu sekvenční změny v DNA probanda proti standardní DNA - sekvenace daného exonu
- **nález mutace**
(pravděpodobnost je 8/60 tj. **13%**)

Nepřímá DNA analýza

- V případě neúspěšné mutační analýzy
- Podmínkou je opakovaný výskyt onemocnění v rodině
- Využívá polymorfních míst v genu, zjistí segregaci patologické alely v rodině
- Nemá dg. výpovědní hodnotu
- Možno využít cca u 1/2 případů

RNA analýza

- Vyšetření celé kódující oblasti genu
- Metoda je náročnější na laboratorní postupy - RNA je nestabilní materiál, který je nutno ihned po odběru materiálu zpracovat ve specializované laboratoři

Postup OLG FN Brno

- Genetická konzultace, klinickogenetické vyšetření, specializovaná vyšetření
- Vyšetření rodičů - vyhledávání minimálních příznaků choroby
- DNA/RNA analýza (informovaný souhlas), MLPA
- Genetická prognosa, návrh a předání do dispenzární péče
- Prenatální diagnostika

Interdisciplinární spolupráce

- Specializovaná vyšetření dítěte a rodičů event. dalších příbuzných - kožní, oční, neurologické, rtg, CT, MRI
- Dispenzarizace nemocného, pravidelné kontroly včetně zobrazovacích metod a preventivní onkologie

Výsledky

- DNA analýza provedena u **138** probandů
- Přímou DNA analýzou nalezeno **18** mutací tj. **u 13% probandů**
- nepřímá DNA analýza mohla být využita v **77** rodinách s opakovaným výskytem tj. **56%**
- prenatální dg. byla využita ve **4** rodinách (1x přímá, 3x nepřímá)

Neurofibromatosa II

- AD
- lokalizace 22q11
- bilaterální / unilaterální neurinom acustiku, paraspinální neurofibromy, cataracta, neurinom acustiku u příbuzného prvního stupně
- DNA/RNA dg.

Poruchy mentálních funkcí

- Demence
- Alzheimerova choroba
- Creutzfeldt-Jakobova choroba

- Mentální retardace

Mentální retardace

- **Není diagnosa použitelná pro genetické poradenství**
- **Vylučujeme**
 - **Syndrom fragilního X**
 - **Vrozenou chromosomovou aberaci včetně mikrodelečních syndromů a subtelomerických delecí**
 - **Metabolickou poruchu**
 - **Genetický syndrom**

Epilepsie

- Heterogenní skupina
- Primární - sekundární
- Zevní vliv - hereditární

- Absence - AD?
- Neonatální klonv. - sporad., AD, lok. chr. 20
- Myoklonie - AR?, chr. ?, neurodeg. onem?
- Parc. benigní - AD?

Genetická rizika u idiopatické epilezie

nemocný	%
Jednovaj. dvojče	Asi 60
Dvouvaj. Dvojče	Asi 10
Sourozenec pod 10 let	6
Sour. nad 25 let	1-2
Sourozenec	2-5
1 rodič	4
1 rodič + sour.	Asi 10
Oba rodiče	Asi 15
populační	1

Vrozené vývojové vady

- Agenesis corporis callosi
- NTD, spina bifida
- Encephalokéle
- Hydrocephalus
- Mikrocephalie
- Makrocephalie
- Holoprosencephalie
- Kraniostenosy

Neurodegenerativní metabolická onemocnění

- Leukodystrofie - AR, XR
- Strádatvé choroby - AR, AD
- Jiné - AR, XR, heterogenní

Metabolická onemocnění

Biochemická genetika

- Klinická a neurologická diagnostika
- Biochemická diagnostika
- Genetická diagnostika
- Terapie

Další často vyšetřované nemoci

- MCAD - OLG
- SMA I,II,III - CMBGT
- Smith-Lemli-Opitz syndrom - CMBGT
- Wilsonova choroba - CMBGT
- PKU, a některé další DPM - CMBGT
- Fridreichova ataxie - Motol, CMBGT
- HSMN (C-M-T) - Motol
- Kraniostenosy - Ke Karlovu

SMA

- 5q12.2-13.3 - gen SMN1
- typ I, II a III
- vyhledávání homozygotů - nemocných
- časná postnatální diagnostika
- prenatální diagnostika
- vyhledování přenašečů

Přehled pracovišť v ČR, která se zabývají DNA diagnostikou

- www.uhkt.cz
- Referenční laboratoře
- pro DNA diagnostiku
- Databáze pracovišť DNA diagnostiky v České republice

Databáze je přímo napojena

- OMIM
- NCBI - národní centrum pro biotechnologické informace USA
- EDDNAL - European Directory of DNA Laboratories

Spolupráce neurologiů a genetiků

- Genetické poradenství
- Spolupráce klinika a genetika při stanovení dg.
- Doporučení dalších laboratorních vyšetření, imunohistochemie, biochemie, hematologie, emg, EP.....
- DNA diagnostika - upřesnění či stanovení dg. nemocného, vyhledávání nosičů mutací
- Prevence, testování prediktivní, vyšetřovací protokoly
- Prenatální dg.