



Fakultní Nemocnice Brno
Jihlavská 20, 639 00 Brno

Genetická preventivní vyšetření u vybraných monogenně dědičných onemocnění

Renata Gaillyová
PřF MU
2007

DNA analýza dědičných onemocnění

- Přímá - detekce mutací - potvrzuje klinickou diagnosu
- Nepřímá - segregáční - nepotvrzuje klinickou diagnosu

DNA analýza dědičných onemocnění

- Diagnostické testy - potvrzení klinické diagnózy na molekulární úrovni, případně potvrzení segregace patologické alely v rodině
- Prediktivní testování - onemocnění s pozdním nástupem klinických příznaků, onkologie
- Prenatální testy

Genetické poradenství a DNA analýza

- Vyšetření na molekulární úrovni by vždy mělo doprovázet genetické poradenství
- Diagnostika na molekulární úrovni musí být vždy prováděna **s informovaným souhlasem** pacienta nebo jeho zákonného zástupce
- Výsledek molekulárně genetického vyšetření by měl být vždy interpretován erudovaným lékařem - klinickým genetikem

Molekulárně genetické vyšetření

- Protokolární postupy - cílené vyšetření vysoce suspektního onemocnění
- Pokud možno přesná klinická dg.
- Informovaný souhlas
- Interdisciplinární spolupráce klinika a klinického genetika a pacienta
- Genetické poradenství před prováděným molekulárně genetickým vyšetřením a při předání - interpretaci výsledku vyšetření

DNA banka

- Slouží k uchování biologického materiálu, který bude možno využít v případě zavedení nových metodik, postupů či vyšetření u různých dědičných onemocnění
- Izolace a uložení DNA v DNA bance se souhlasem pacienta nebo rodiny umožňuje zachování vzácného materiálu, který v budoucnu může umožnit rodinám využít diagnostické, presymptomatické či prenatální vyšetření

Autosomálně Recesivní

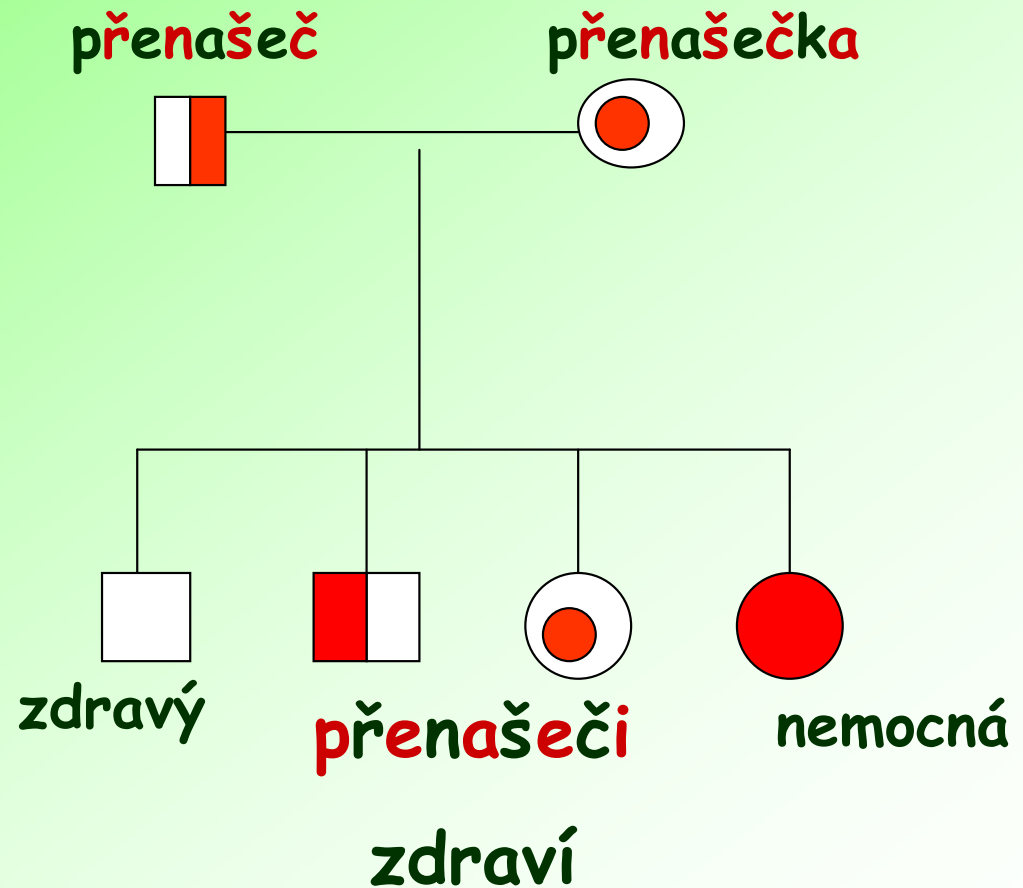
- Recesivní alela na autosomu
- horizontální typ dědičnosti
- riziko pro sourozence 25%
- poměr pohlaví 1:1
- postižení se objeví pouze u homozygotů
- častější u příbuzenských sňatku

- Cystická fibrosa, Fenylketonurie, Kongenitální adrenální hyperplasie, Spinální muskulární dystrofie...



Rodokmen - AR dědičnost

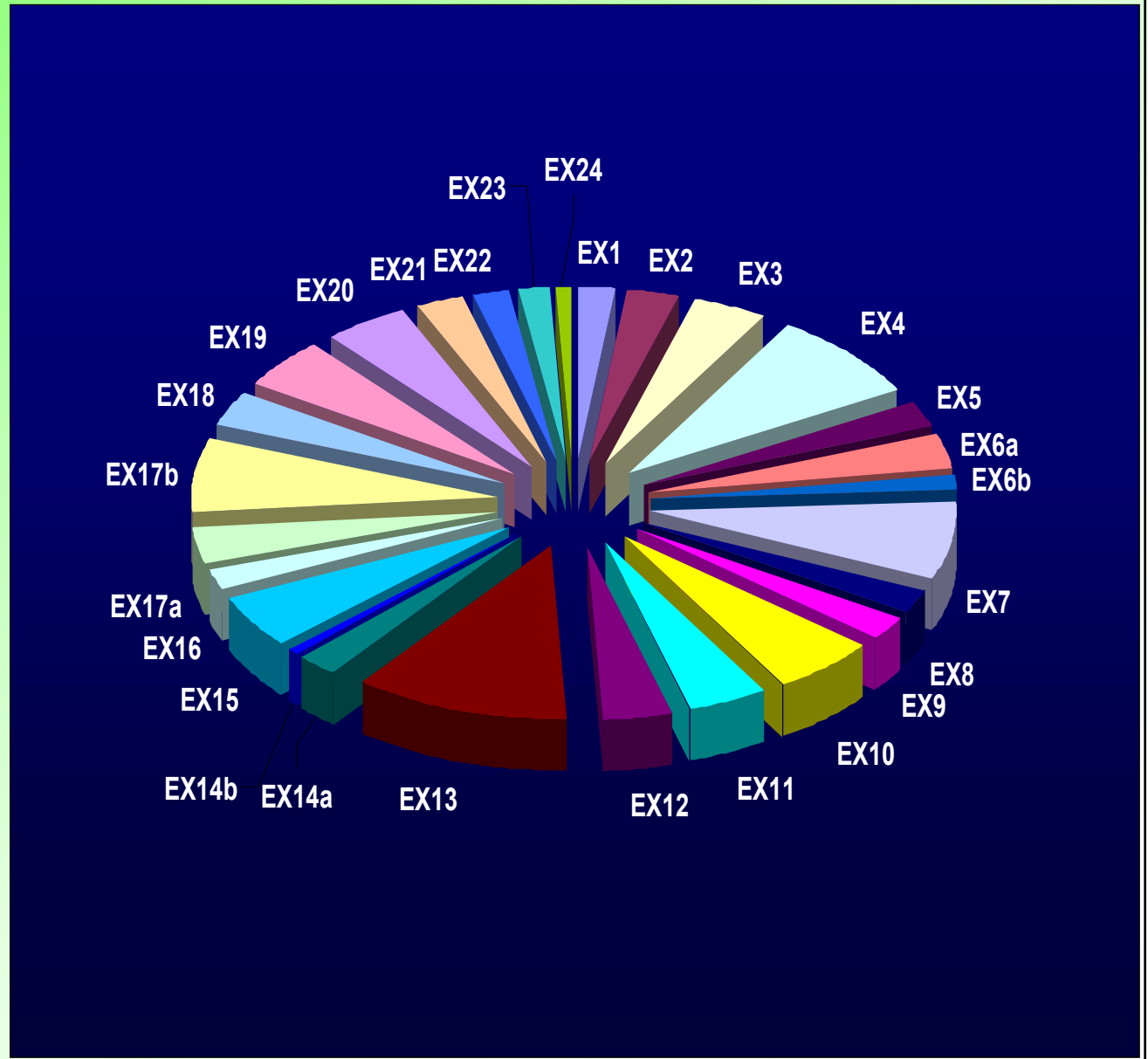
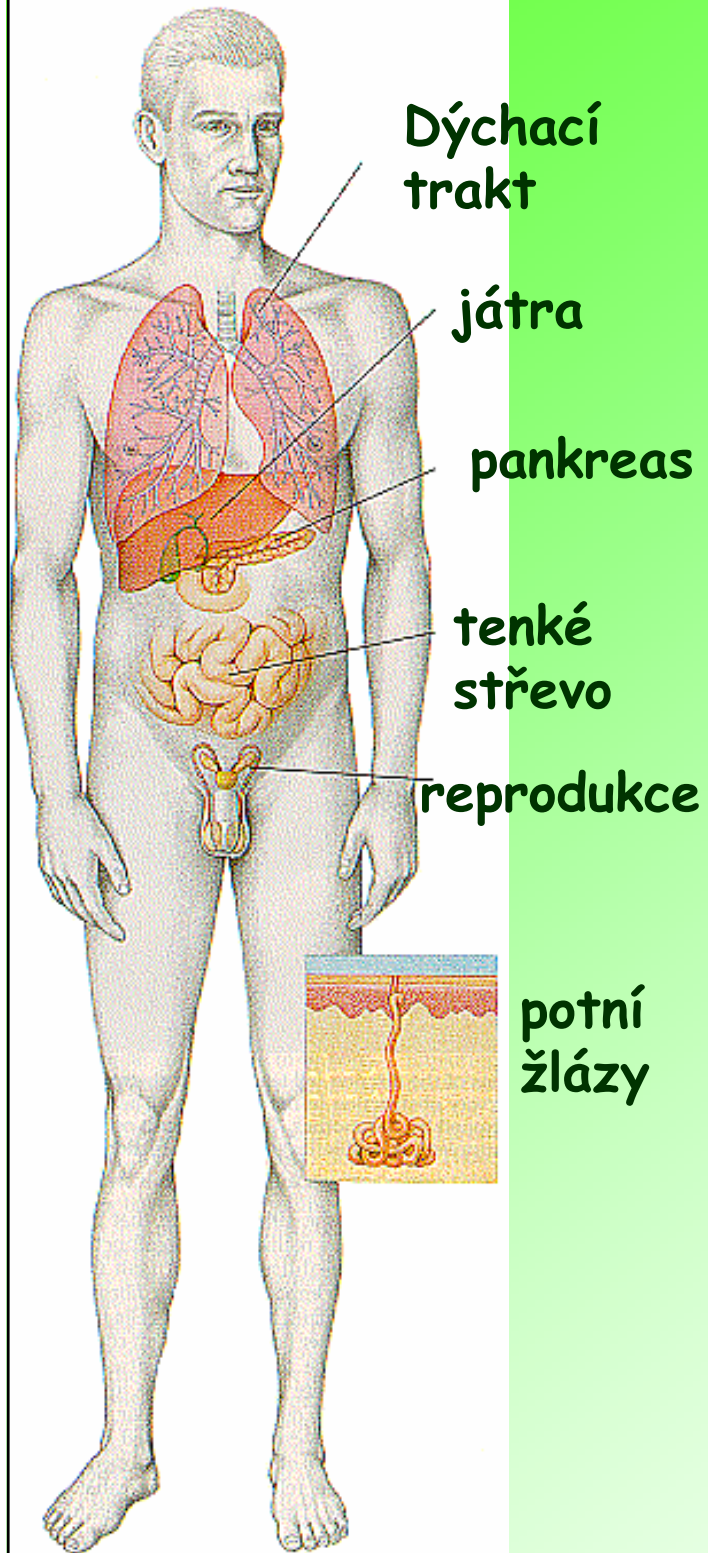
- Riziko postižení dalšího dítěte dvou přenašečů **25%** bez rozdílu pohlaví
- 50% dětí dvou přenašečů jsou zdraví přenašeči



Cystická fibrosa

- Lokalizace 7q
- Frekvence nemocných v ČR cca 1/2000 - 1/3000
- Frekvence přenašečů v ČR cca 1/25-1/29
- Gen zmapován v roce 1989
- V roce 2002 známo 1002 mutace

Cystická fibrosa



Mutace v genu cystické fibrosy

Mutace	Frekvence v ČR v %
F508del	70,7
CFTRdele2,3(21kb)	6,4
G551D	3,7
N1303K	2,8
G542X	2,1
1898+1 GtoA	2,0
2143delT	1,1
R347P	0,74
W1282X	0,6

Indikace k analýze CFTR genu na OLG FN Brno

- Suspektní Cystická fibrosa
- Cystická fibrosa v rodině
- Neprospívání
- Infertilita ženy
(2x SA, opakovaně neúspěšný IVF cyklus)
- Sterilita muži
(patologický SPG)
- Zátěž v rodě
(úmrtí v kojeneckém a dětském věku)
- Příbuzenský vztah

Klinické příznaky

- Respirační trakt
- GIT
- Iontová dysbalance, zvýšená koncentrace chloridů v potu (slané dítě)
- Poruchy reprodukce
- Poruchy růstu

Průběh onemocnění

- Typické formy
- Atypické formy

Přirozený průběh

- V době stanovení diagnosy průměrný věk 6-8 měsíců, 66% do 1 roku
- Závažnost limituje především postižení plic
- Medián přežití v roce 1976 - 18 let, v roce 1995 - 30 let, od 1990 velmi malé zlepšení, dnes v Německu cca 36 let
- Klinická heterogenita na základě mutací CFTR genu

Strategie genetického vyšetření

- F508del - 68,8%
- 6 mutací - více než 80%
- 36 mutací - cca 95%
- skrínovací metody, sekvenace
- nepřímá DNA analýza

Genetické poradenství u CF

- Retrospektivní - po porodu dítěte s cystickou fibrosou - riziko opakování pro dalšího sourozence 25% bez rozdílu pohlaví
- Prospektivní - prevence prvního výskytu CF
 - steriliní a infertinlí páry, příbuzní partneři, vyhledávání dalších osob v riziku
 - přenašečů v CF rodinách

SMA

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

X-Recesivní

- postižený je většinou muž, jeho synové jsou zdraví a dcery jsou přenašečky onemocnění
- ženy-přenašečky mají 1/2 synů nemocných a 1/2 dcer přenašeček
- vzácně výskyt u žen - dcera postiženého muže a ženy přenašečky, ženy s karyotypem 45,X, 46,XY, female....

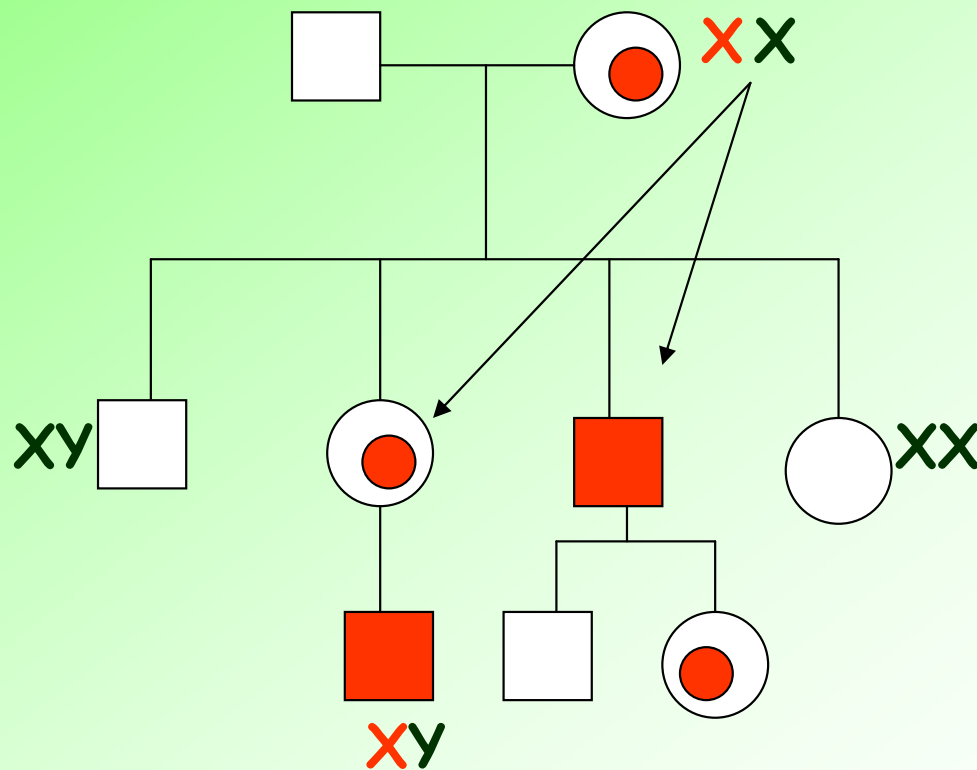
X- recesivně vázaná onemocnění

- Hemofilie A a B
- Duchenneova / Beckerova svalová dystrofie



Rodokmen X- recesivní dědičnosti

- Žena přenašečka má **50%** nemocných synů a **50%** dcer přenašeček
- Nemocný muž má **všechny** syny zdravé a **všechny** dcery přenašečky



Duchenneova/Beckerova svalová dystrofie

- XR, lokalizace Xp21
- incidence u chlapců asi 1/3-6 000
- dystrofinopathie - chybění proteinu dystrofin ve svalových buňkách
- DMD - progresivní dystrofie, úmrtí kolem 20 roku věku
- BMD - pomalá progrese

DMD/BMD

- molekulárně genetické vyšetření - 60% mutací jsou velké delece
- vyhledávání žen přenašeček - nepřímá DNA diagnostika, neurologie, UZ, emg, biochemie (JT, CK), svalová biopsie, RNA dg. imunohistochemické vyšetření, FISH
- prenatální dg.

Duchenneova/Beckerova svalová dystrofie (Xp)

- časná diagnostika
- vyhledávání přenašeček
- prenatální diagnostika

Hemofílie

- časná diagnostika
- vyhledávání žen - přenašeček
- prenatální diagnostika
- specializovaná péče o gravidiní - přenašečku
Hemofílie, perinatální péče na
specializovaném pracovišti, informovaný
ošetřovatelský tým

Hemofílie

- Hem A - Xq28, deficit f VIII
- frekvence cca 1/5 000 chlapců

- Hem B - Xq27.1-27.2, deficit faktoru IX
- frekvence cca 1/25-30 000 chlapců

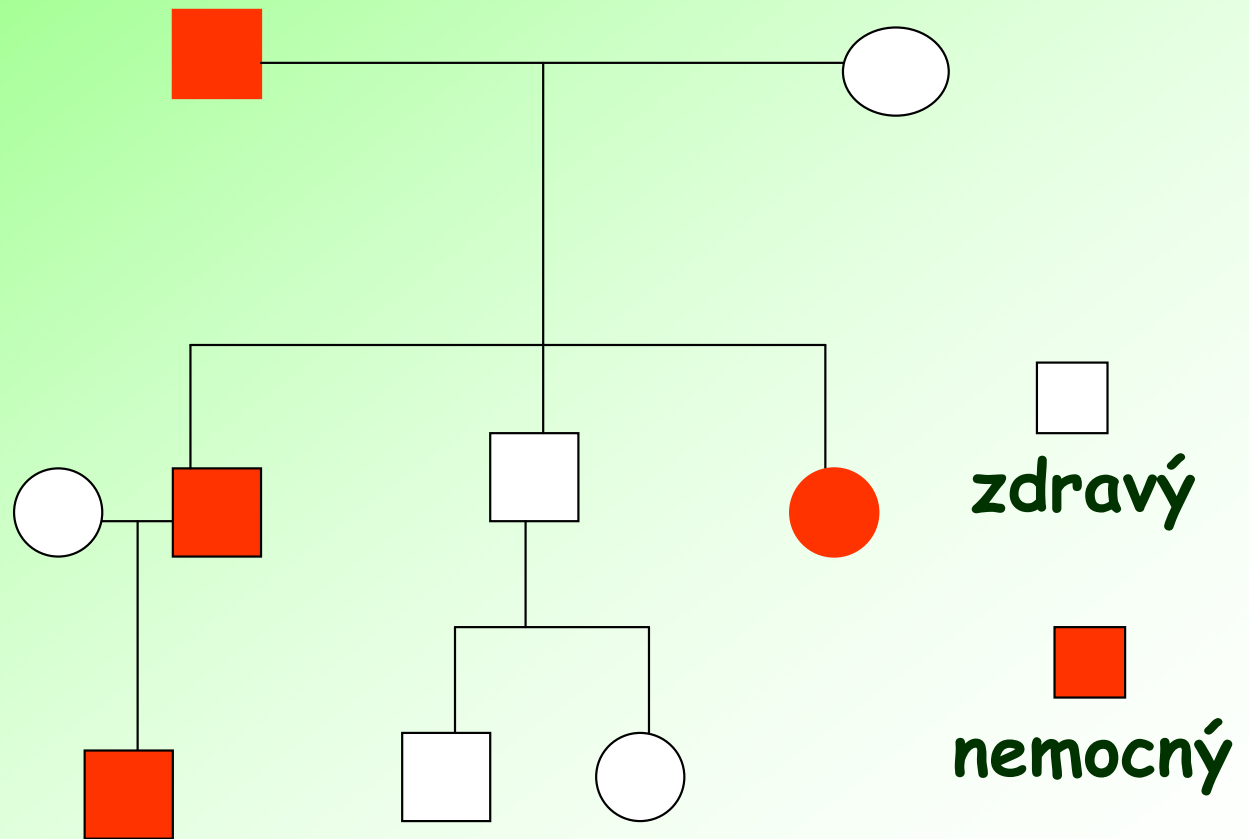
Autosomálně Dominantní

- dominantní mutace na autosomu
- vertikální typ dědičnosti
- postižení většinou heterozygoti
- riziko opakování pro potomky a sourozence 50% bez rozdílu pohlaví
- často nové mutace, variabilní expresivita, neúplná penetrance

Rodokmen - AD dědičnost

- **50%** riziko pro děti nemocného bez rozdílu pohlaví

- Děti zdravého jsou většinou zdravé



AD dědičná onemocnění

- **Myotonická dystrofie I a II**
- **Neurofibromatosa**
- **Huntingtonova choroba**

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

Neurofibromatosa typ II

- Onemocnění mnohem vzácnější
- Výskyt neurinomů akustiku, mnohočetných Schwanomů a meningeomů
- Kožní projevy mírné
- Lokalizace genu 22q11
- Dědičnost AD

Molekulárně genetická analýza

- Gen NF I - 60 exonů
- Nejsou známa místa s vyšší frekvencí mutací
- 50% onemocnění způsobeno de novo mutacemi
- V rodinách s opakovaným výskytem je možná nepřímá DNA analýza
- V současné době ukončujeme přímou DNA analýzu 8 exonů, které představují asi 13% genu a záchyt mutací byl rovněž 13%
- Pokračujeme v zavedené RNA dg. celé kódující oblasti jako první krok mol. genetické analýzy
- Rozvoj MLPA
- Gen NF II - 17 exonů
- DNA diagnostika - SSCP
- RNA analýza - přímá sekvenace

Kasuistika

- **2002** - genetická konzultace - chlapec ze 3. gravidity, rodiče a dva sourozenci zdraví, v 8,5 měsících odesláni z kožní ambulance, **od 2 měsíců se na kůži objevují skvrny café au lait**, PMV přiměřený.
- **2002 DNA analýza** 8mi exonů genu NF1 6,12b,16,28,29,30,31,37 (17q11,2), mutace nenalezena
- **2004 zahájena RNA analýza**
- **2005 odhalena změna v exonu 19b** na jedné alele genu NF1, pro objasnění genomické podstaty této změny byla provedena sekvenace DNA exonu 19b, potvrzena kombinovaná inserce/delece 3200-3201 delATinsC, touto změnou nastává posun čtecího rámce a v 9. kodonu od detekované mutace vzniká STOP kodon, po translaci tedy zřejmě vzniká zkrácený protein
- U obou rodičů nebyla mutace nalezena - v.s. vznikla u chlapce de novo
- Vyšetření je možno použít i pro prenatální diagnostiku
- **Dále pokračuje komplexní dispenzarizace dítěte - kožní, neurologie, CT, MRI, oční, ortopedie, rehabilitace...**

Huntingtonova chorea

- AD, lokalizace 4p
- presenilní demence, atetoidní mimovolní pohyby
- amplifikační mutace - expanze CAG 30-100x
- nástup v dospělosti
- asociované problémy

Huntingtonova chorea

- diagnostické testování
- testování osob v riziku
- genetické poradenství
- prenatální diagnostika

Preventivní vyšetření - LQT syndrom

- 10% nosičů mutace má během života klinické potíže, první projev onemocnění může být náhlá srdeční smrt
- diagnostika
- vyhledávání nosičů mutace v rodinách
- preventivní terapie pozitivně testovaných na kardiologii
- prenatální diagnostika - málo využívaná

Trombofilie

- trombembolických příhod a u Preventivní vyšetření v rodinách s pozitivní anamnesou pacientek s opakovanými fetálními ztrátami
- preventivní vyšetření a dispenzarizace na hematologii, předoperační vyšetření apod., vyšetření příbuzných
- Preventivní péče v gynekologii v graviditě

Leidenská mutace G1691A f V

- frekvence v bílé evropské populaci asi 5 - 9%
- AD dědičnost
- zvýšení rizika tromboembolismu u homozygotů 50-100x, u heterozygotů 5-10x
- asociace s rizikem časných fetálních ztrát není potvrzena
- zvyšuje riziko fetálních ztrát od konce I. trimestru, ve II. a III. trimestru

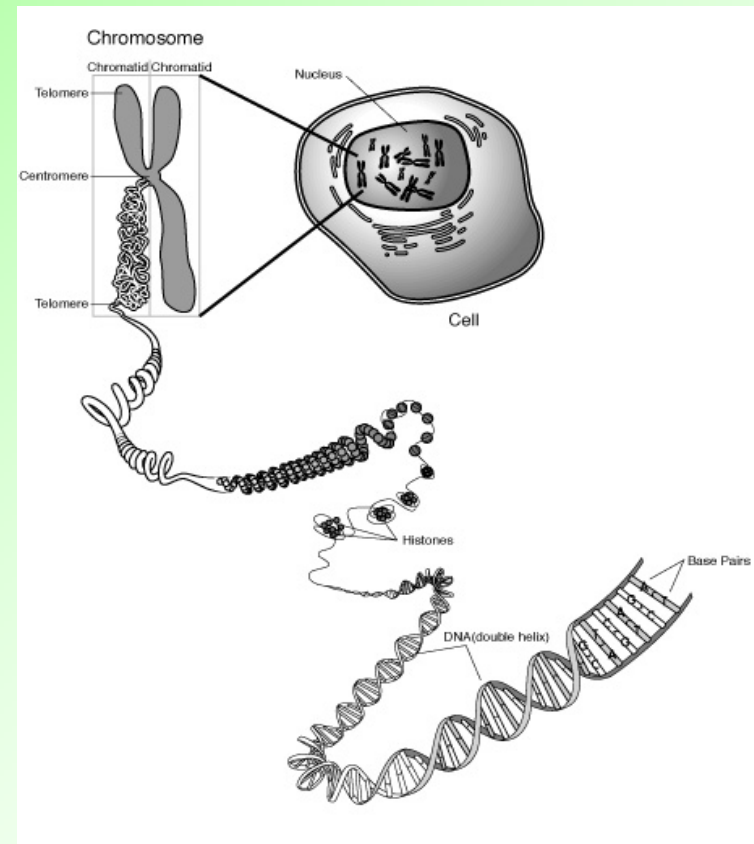
G20210A f II Prothrombin

- v heterozygotním stavu se mutace vyskytuje asi u 2-3% populace
- zvýšení rizika tromboembolismu
- nosičství je spojeno se zvýšeným rizikem fetálních ztrát, abrupce, preeklampsie, IUGR
- riziko časných SA není potvrzeno

Vznik mutací u člověka

Pohlavní rozdíl

- **Mutace genomové** -
aneuploidie -
numerické
chromosomové
aberrace
- **Mutace chromosomové**
- strukturální
chromosomové
aberrace
- **Mutace genové** -
změny genů



Vrozené mutace u člověka

- **Spermatogenese**
- Nepřetržitý sled buněčných dělení probíhající po celý život, jejichž výsledkem je asi miliarda spermií
- „**Copy errors**“ - spermie je produktem
- asi 200 dělení u 20ti letého muže
- asi 430 dělení u 30ti letého muže
- asi 770 dělení u 45ti letého muže

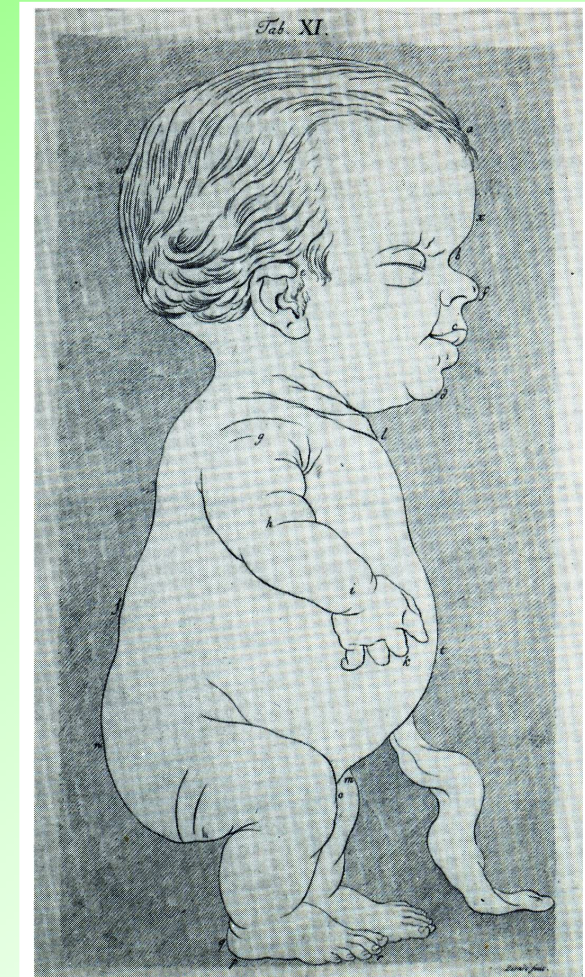
Frekvence nových mutací

- Např. u 27-letého muže je spermie produktem asi 300 buněčných dělení tedy - každá spermie ponese odhadem $3 \times 10^2 \times 6 \times 10^9 \times 10^{-10} =$ **180 nových mutací** jako důsledek chyb při replikaci
- Odhaduje se, že novou „škodlivou mutací“ ponese asi jedna z 10 spermií

Riziková onemocnění, která mohou souviset s vyšším věkem otce

- Achondroplasia
- Crouzonův syndrom
- Apertův syndrom
- Mentální retardace nejasné etiologie
- Autismus
- Schizofrenie
- Mnohočetná endokrinní neoplasie
- Neurofibromatosa I
- Hemofilie B

- **Achondroplasia (ACH)**
- 1964 Maroteaux-Lamy
- Výskyt 1 : 15 000-40 000
- dědičnost autozomálně dominantní
- 90% jsou děti zdravých rodičů
- **Starší otcové**
- Identifikace genu FGFR3
- 2 mutace vedoucí k záměně jedné AMK (98% c.1138G-A, 1-2% c.1138G-C)
- **Paternální původ mutací**
- FGFR3 nukleotid mutovaný u ACH se jeví jako nejvíce mutovaný nukleotid v lidském genomu



První znázornění achondroplázie v odborné literatuře z roku 1791