



Fakultní Nemocnice Brno
Jihlavská 20, 639 00 Brno

Genetická preventivní vyšetření u vybraných monogenně dědičných onemocnění

Renata Gaillyová
2010

Molekulární biologie

- Metodiky využívané stále šířeji v laboratorní praxi mnoha oborů
- Využití v klinické genetice je jednou z možností využití metod molekulární biologie

Diagnostika chorob na molekulární úrovni

- Stále se rozšiřuje počet onemocnění s objasněnou molekulární podstatou
- Stále se zvyšuje počet onemocnění s možností DNA diagnostiky
- Stále se rozšiřuje spektrum metod využívaných v DNA diagnostice - při vyhledávání mutací způsobujících závažná dědičná onemocnění

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 (presymptomatické) 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
(klinický lékař, klinický genetik, molekulární biolog, pacient)
- 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

Genetická prevence u monogenních dědičných chorob

- časná diagnostika
- vyhledávání heterozygotů (AR, XR)
- prenatální diagnostika
- prediktivní a presymptomatické testy
- preventivní léčba před rozvojem příznaků
- genetické poradenství

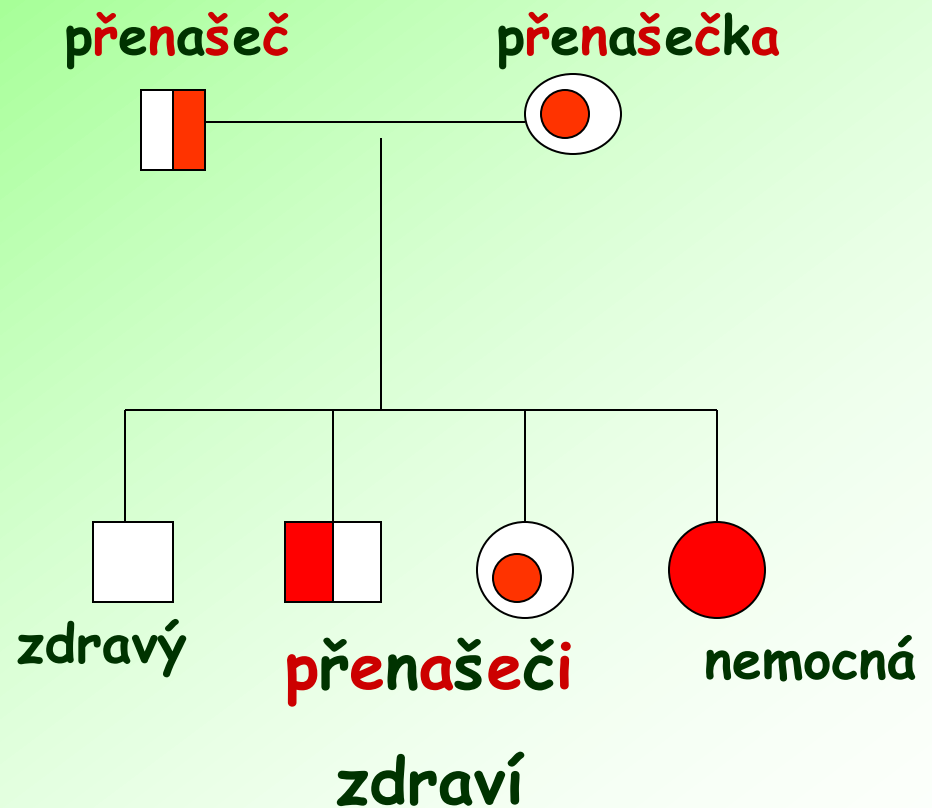
Autosomálně Recesivní

- 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

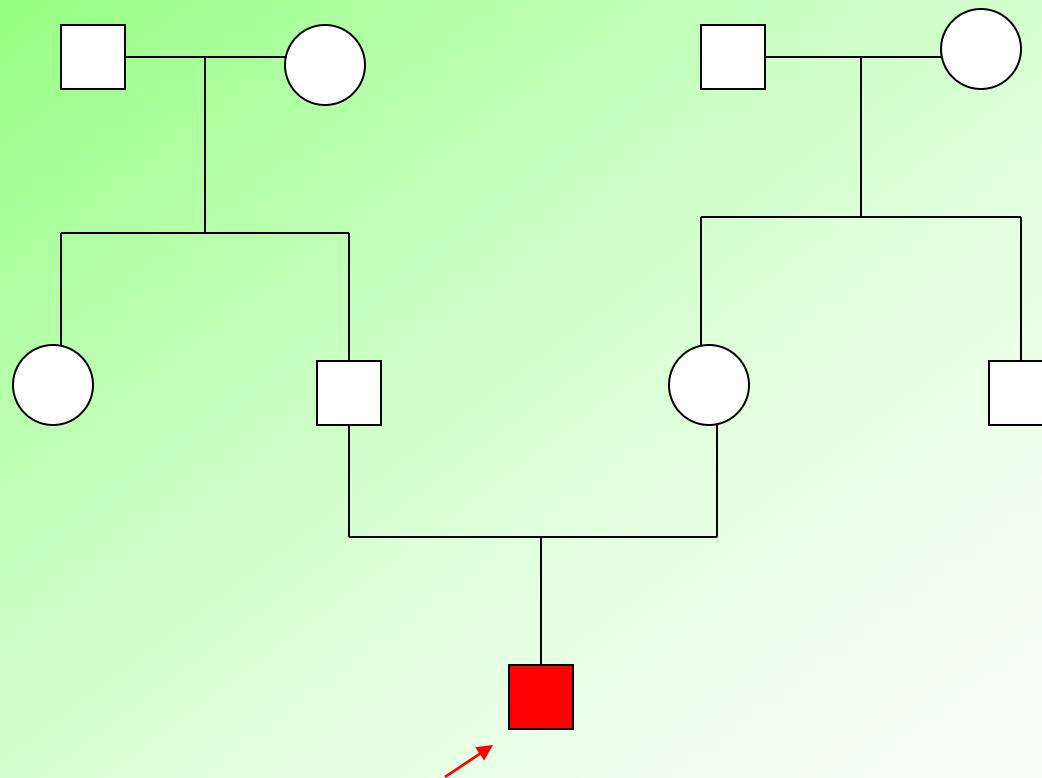
- Cystická fibrosa, Fenylketonurie, Kongenitální adrenální hyperplasie, Spinální muskulární dystrofie...

Rodokmen - AR dědičnost

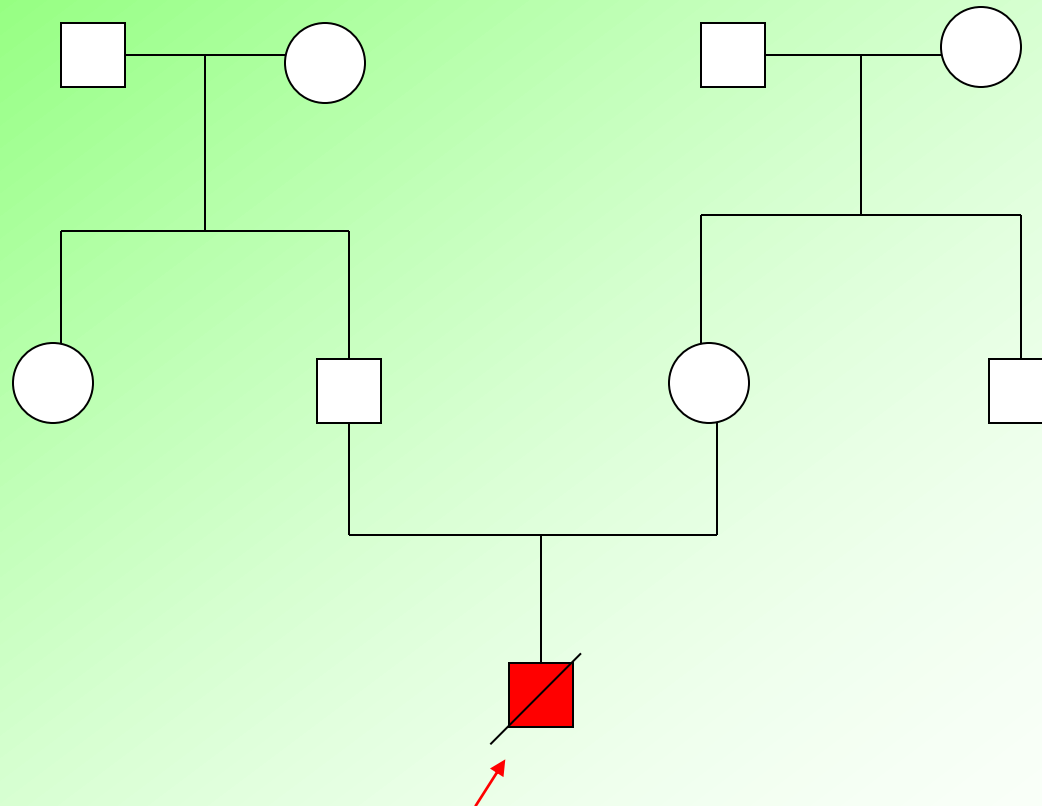
- Riziko postižení dalšího dítěte dvou přenašečů **25%** bez rozdílu pohlaví
- 50% dětí dvou přenašečů jsou zdraví přenašeči



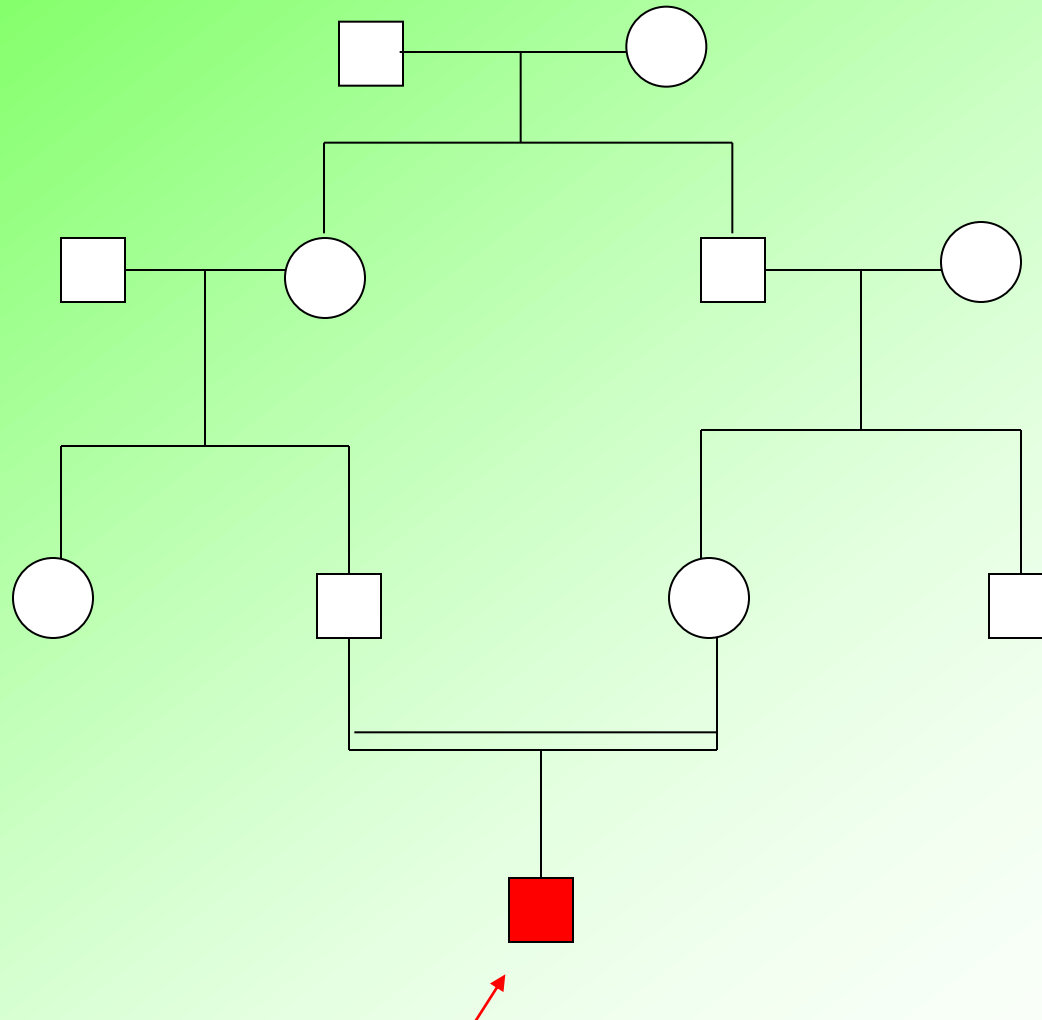
Rodokmen - obvyklá situace



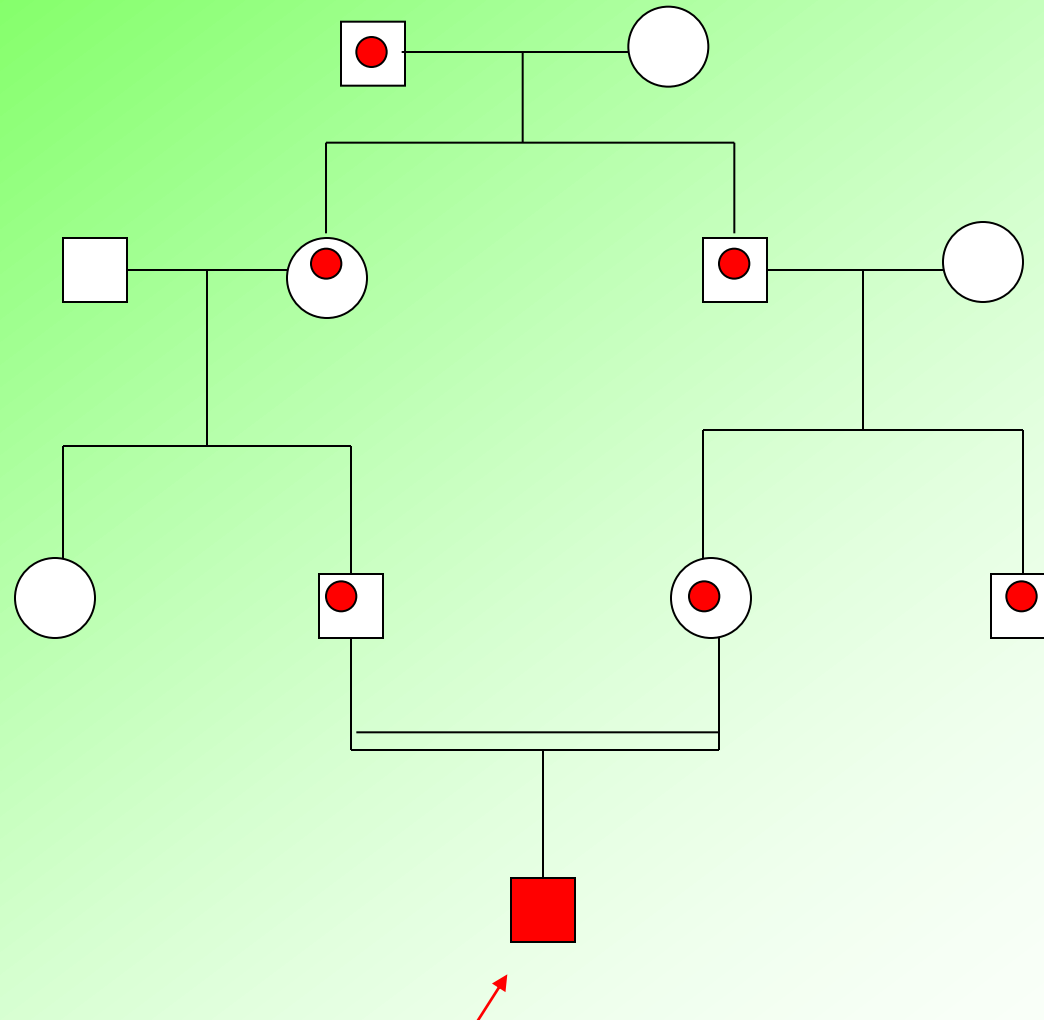
Rodokmen - obvyklá situace



Rodokmen - příbuzní partneři



Rodokmen - příbuzní partneři



AR dědičná onemocnění příklady

- Cystická fibrosa (přenašeči 1/26)
- Fenylketonurie (1/40)
- Kongenitální adrenální hyperplasie -
dříve adrenogenitální syndrom
(1/40)
- Mnohé dědičné poruchy metabolismu
- Nejčastější typ vrozené dědičné
nesyndromové hluchoty

Cystická fibrosa

- Lokalizace 7q
- Frekvence nemocných v ČR
cca 1/2000 - 1/4000
- Frekvence přenašečů v ČR
cca 1/25-1/29
- Gen zmapován v roce 1989
- V roce 2002 známo 1002
mutace
- V současnosti známo cca 1500
mutací v CFTR genu

Klinické příznaky

- Respirační trakt
- GIT
- Iontová dysbalance, zvýšená koncentrace chloridů v potu
- Poruchy reprodukce
- Poruchy růstu

Průběh onemocnění

- Typické formy
- Atypické formy

Přirozený průběh

- V době stanovení diagnózy 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
- Klinická heterogenita na základě mutací CFTR genu
- 10/2009 - novorozenecký screening CF

Strategie genetického vyšetření

- F508del - 68,8%
- 6 mutací - cca 80-85 (90 a více???)%
- R117H, IVS8polyT - vztah k mužské sterilitě
- 36 mutací - cca 95%
- skrínovací metody + sekvenace
- nepřímá DNA analýza

Nejčastější mutace v CFTR genu

Mutation	Czech Republic	OLG Brno
F508del	68,8 %	70,32 %
CFTR dele 2,3	4,64 %	5,56 %
G551D	4,03 %	1,85 %
N1303K	3,02 %	1,11 %
G542X	2,22 %	5,56 %
1898+1 G-A	2,04 %	0,37 %
2143 del T	1,11 %	0,37 %
R347 P	0,74 %	1,29 %
W1282X	0,55 %	0,37 %
E92X	0,37%	0 %

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 infertiní páry, příbuzní partneři, vyhledávání dalších osob v riziku
 - přenašečů v CF rodinách
- Novorozenecký screening CF - 2009

SMA

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

Příbuzenské páry

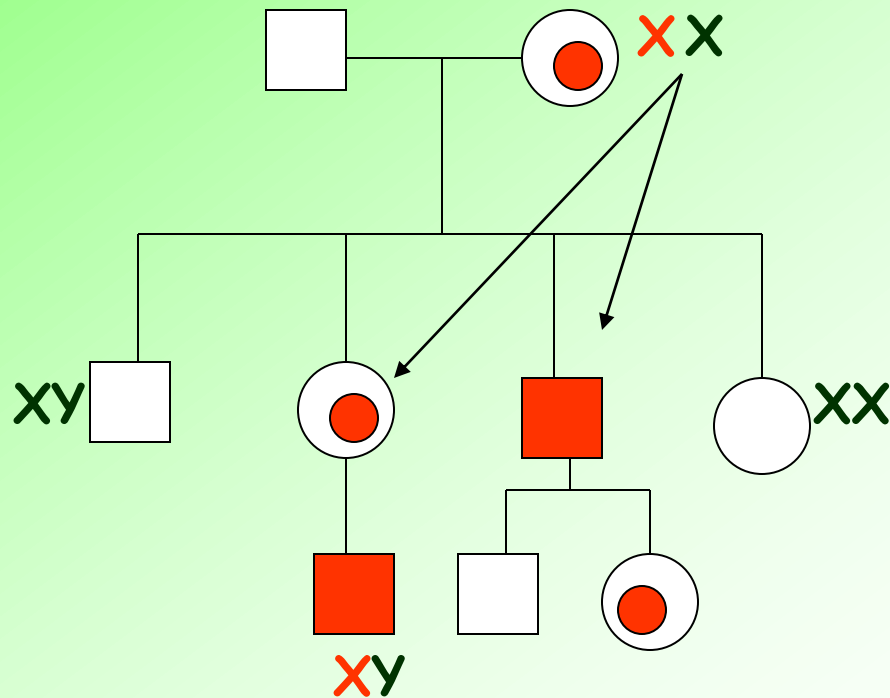
- Riziko především vzácných autosomálně recesivně dědičných onemocnění

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....

Rodokmen X- recesivní dědičnost

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



XR - příklady onemocnění

- Hemophilia A and B
- Duchenneova/Beckerova svalová dystrofie

- Syndrom fragilního X chromosomu (X-vázané onemocnění)

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

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
- **MLPA - detekce delecí a duplikací**
- RNA analýza svalové tkáně, reverzní transkripce, PCR, sekvenční analýza
- PT test
- od 2006 DHPLC u probandů bez delece a RNA

Možnosti vyšetření potenciálních přenašečů

- nepřímá DNA analýza
- mRNA ze svalové biopsie
- real time PCR využívající fluorescenčních sond a koamplifikace referenčního genu
- FISH - detekce 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)
- **MLPA - detekce delecí a duplikací**

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
- **vyšetření delecí a duplikací metodou MLPA**
- Preimplantační genetická diagnostika (IVF) - FISH, DNA analýza
- svalová biopsie plodu

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

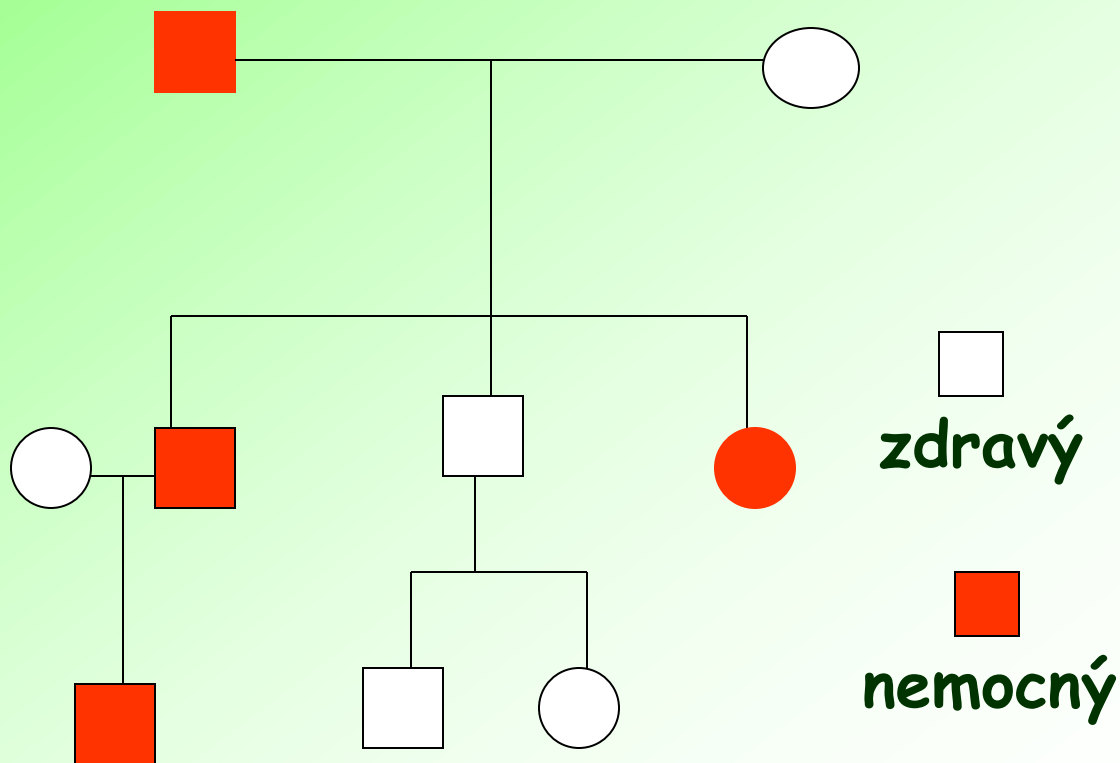
- Hem B - Xq27.1-27.2, deficit faktoru IX
- frekvence cca 1/25-30 000 chlapců

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
- Syndrom prodlouženého QT intervalu - dědičné arytmie srdeční
- Leidenská mutace v genu pro f V - dědičné trombofilie

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

AEC syndrom

Ankyloblepharon, ectodermal dysplasia, cleft lip/palate

- Autosomálně dominantní dědičnost
- Eroze ve vlasaté části hlavy, hypoplasie mandibuly, převodní porucha sluchu, atypický tvar ušních boltců, ankyloblepharon, atresie slzných cest, sporé obočí, řasy, rozštěp patra, rtu, anomálie dentice, srdeční vady, syndaktile 2-3 prstu DKK, zarudnutí jemné kůže, hyperkeratosis, hyperpigmentace, částečná anhidrosis - hypohydrotická ektodermální dysplasia, dystrofické nehty, jemné sporé ochlupení a vlasy, normální inteligence.

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