

# Monogenně dědičná onemocnění

Renata Gaillyová

LF 2008 - ZL

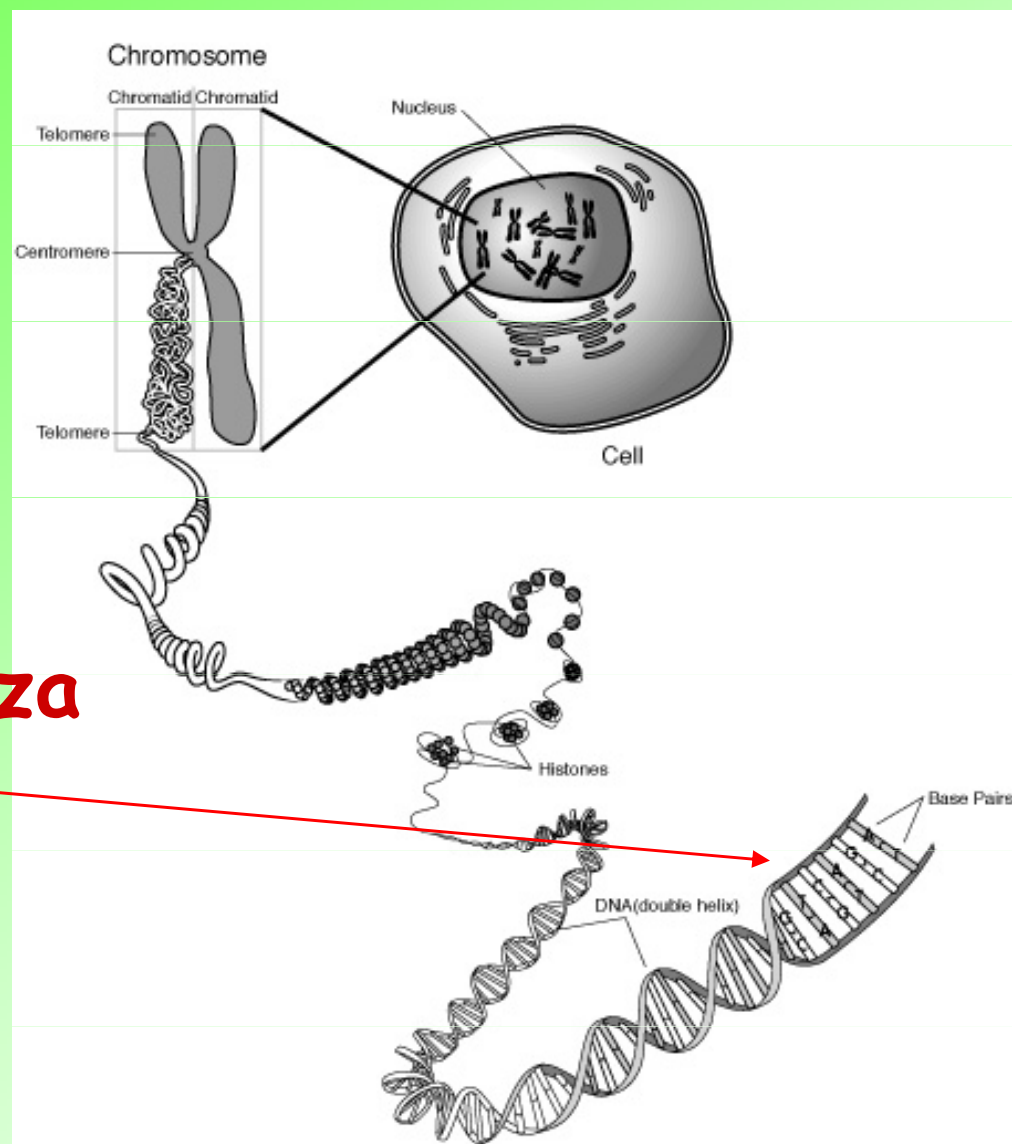
# Genetická onemocnění

- Vrozené chromosomové aberace
- **Monogenně podmíněné nemoci**
- Polygenně a multifaktoriálně dědičná onemocnění
- Mitochondriální choroby

# Zastoupení genetických chorob a vývojových vad podle etiologie

- **0,6 %** populace má vrozenou chromosomovou aberaci
- incidence vážných monogenně podmíněných chorob odhadnuta na **0,36%** u živě narozených novorozenců (studie na 1 000 000 dětí), méně než 10% se manifestuje po pubertě
- až **80 %** populace onemocní do konce života multifaktoriálně podmíněnou chorobou  
(genetická predispozice  
+ vliv zevního prostředí)

# Monogenně dědičná onemocnění

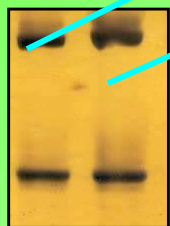


DNA analýza

# Typy dědičnosti

- Autosomálně recesivní - AR
- X-recesivní - XR
- Autosomálně dominantní - AD
- X- dominantní - XD
- Mitochondriální

# DNA / RNA analýza



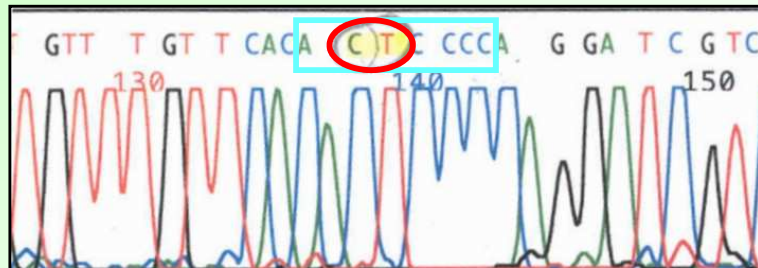
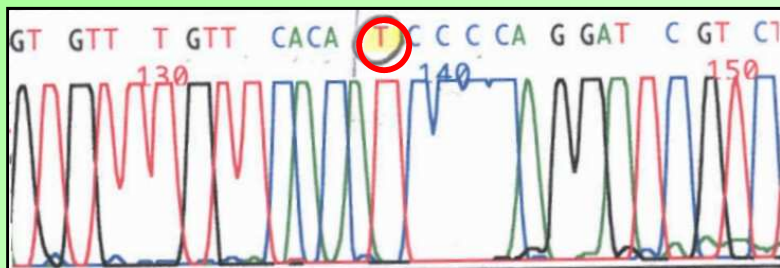
Normální alela (non)

Mutovaná alela (mt)

36 35 34 33 32 31 30

3' T G A G G G G 5'

5' A C T C C C C 3'



# Autosomálně recesivní dědičnost

- Pokud se autosomálně recesivní fenotyp vyskytne u více než jednoho člena rodokmenu, je to obvykle pouze u sourozenců probanda, nikoli u rodičů, potomstva nebo jiných příbuzných.
- U většiny autosomálně recesivních chorob jsou muži i ženy postiženi se stejnou pravděpodobností.

# Autosomálně recesivní dědičnost

- Rodiče postiženého dítěte jsou asymptotičtí přenašeči mutantních alel.
- Rodiče postiženého jedince mohou být v některých případech konsanguinní, to je pravděpodobné zejména tehdy, je-li gen zodpovědný za postižení v populaci vzácný.
- Riziko opakování pro každého sourozence probanda je 1:4 (25%).

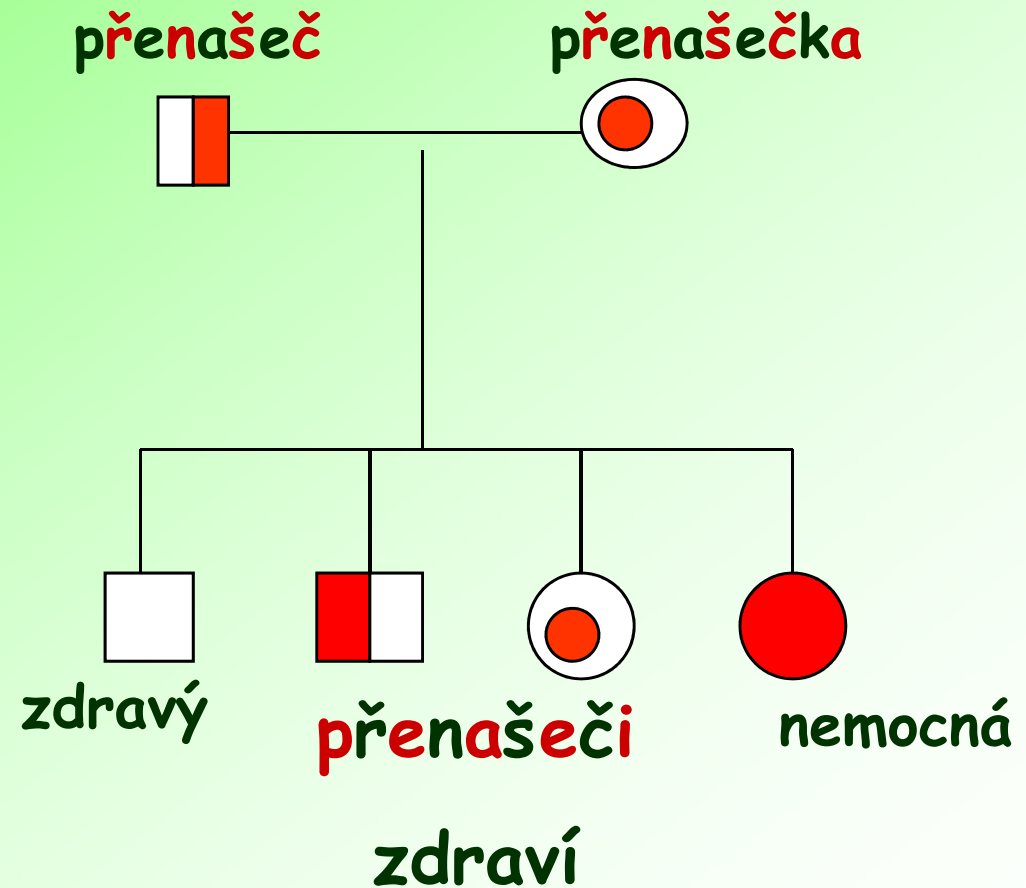


# Autosomálně Recesivní

- 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



# Choroby AR dědičné

- Cystická fibrosa - CF
- Fenylketourie - PKU - porucha metabolismu bílkovin
- Kongenitální adrenální hyperplasie - CAH, Adrenogenitální syndrom -AGS, deficit 21-hydroxylázy steroidů
- Spinální muskulární atrofie - SMA
- Nejčastější příčina dědičné nesyndromové ztráty sluchu
- Dědičné poruchy metabolismu některé

# 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 2008 známo 1300 mutací

# 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 - vyhledávání zdravých nosičů, vyšetření partnerů
- Neprospívání + patol. potní test
- Infertilita ženy ???  
(2x SA, opakovaně neúspěšný IVF cyklus)
- Infertilita muži  
(patologický SPG, azoospermie)
- 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, neprospívání

# 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

# Typy využívaných analýz

- Základní mutační analýza - 6 mutací, které se vyskytují asi u **83%** CF pacientů v ČR
- Základní mutační analýza + polythimidinové alelické varianty v intronu 8 CFTR genu (sterilita muži)
- Rozšířená mutační analýza CFTR genu - Inno-lipa 17 + 19 mutací CFTR genu
- Sekvenace celé kódující oblasti CFTR genu

# 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 partneri, vyhledávání dalších osob v riziku
  - přenašečů v CF rodinách , vyšetření partnerů zdravých nosičů mutace CFTR genu nebo nemocného CF

# Fenylketonurie

- Dědičná porucha metabolismu - primární defekt je deficit enzymu fenylalaninhydroxylázy (PAH), který katalyzuje přeměnu fenylalaninu na tyrozin
- Frekvence 1/4000-1/12000 novorozenců, přenašeči cca 1/40
- Novorozenecký screening
- Časná diagnostika
- Bezbílkovinná dieta co nejdříve - restrikce Phe
- Neléčená PKU - progresivní poškození vyvíjejícího se mozku, mentální retardace, epilepsie, spasticita, psychiatrické problémy
- Maternální PKU

# Spinální Muskulární Atrofie

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

# X-recesivní dědičnost

- Incidence znaku je mnohem vyšší u mužů než u žen.
- Heterozygotní ženy jsou většinou nepostižené, ale některé mohou postižení exprimovat s různou závažností, kterou určuje i model X inaktivace.
- Gen zodpovědný za postižení je přenášen z postiženého muže přes všechny jeho dcery. Každý ze synů jeho dcer má 50% pravděpodobnost, že postižení zdědí.

# X-recesivní dědičnost

- Gen zpravidla nebývá nikdy transmitován z otce na syna, ale je přenášen postiženým mužem na všechny jeho dcery.
- Gen může být transmitován přes několik žen-přenašeček, po několik generací, pokud se tak stane, jsou postižení muži příbuzní přes ženy.



# X-recesivní dědičnost

- Dcery ženy přenašečky mají riziko 50%, že budou opět přenašečkami, synové ženy přenašečky mají riziko 50%, že budou postižení.
- Významná část izolovaných případů je důsledkem nových mutací.

## X-Recessivní

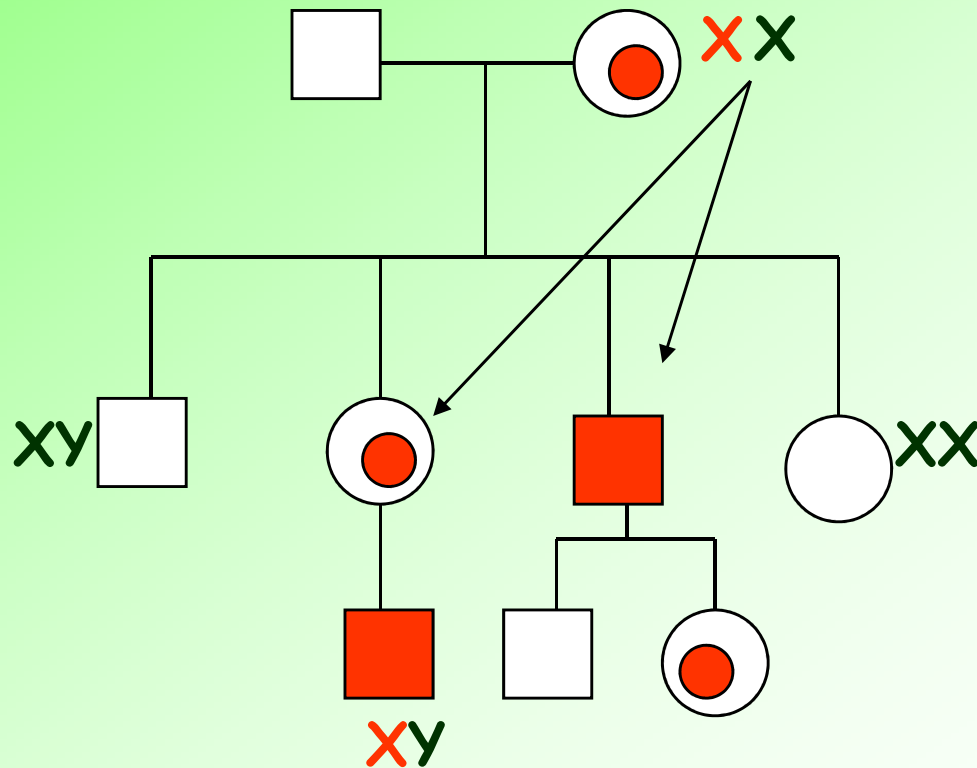
- postižený je většinou muž, jeho synové jsou zdraví a dcery jsou přenašečky onemocnění
- ženy-přenašečky mají 1/2 synů nemocných a 1/2 dcer přenašeček
- vzácně výskyt u žen - dcera postiženého muže a ženy přenašečky, ženy s karyotypem 45,X, 46,XY, female....

# X- recesivně vázaná onemocnění

- Hemofilie A a B
- Duchenneova /  
Beckerova svalová  
dystrofie
- Daltonismus -  
barvoslepost
- Některé dědičné  
poruchy metabolismu

# Rodokmen X- recesivní dědičnost

- 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

# Duchennova svalová dystrofie

Dystrofinový gen - 60-70% rozsáhlých delecí a duplikací

# 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



# DMD po IVF - kasuistika

- 1990 - partner - agenese testis, 46,XX
- 2000 - partneři - prekoncepční vyšetření, azoospermie u partnera (agenese testes)
- partnerka 46,XX
- partner 47,XXY/46,XX, non delece AZF a,b,c, gen CFTR non: F508del, CFTR dele2,3)21kb), G542X, G551D, R553X

# DMD po IVF - kasuistika

- 1. cyklus IVF/AID úspěšný, těhotenství bez komplikací, porod sekčí v termínu, 4200/55
- chlapec zdravý, vyšetřen v 1/2 roce po infekci močových cest oš. pediatrem, zjištěna hepatopathie, vyloučena infekční etiologie, susp. nervosvalové onemocnění
- DNA analýza potvrdila DMD - delece exonu 45-50 v genu pro dystrofin

# DMD po IVF - kasuistika

- Rodinná anamnesa je negativní
- Matka je přenašečka pro DMD de novo (nepřímá DNA analýza. mRNA, FISH)
- Sestra matky má 2 chlapce ve věku 11 a 3 roky, plánovala zařazení do programu dárkyň oocytů- není přenašečka, matka partnerky není přenašečka DMD (nepřímá DNA analýza)
- 2.IVF cyklus s využitím IVF/AID/PGD - DMD neúspěšný

# Detekce delece DMD exonů

Metoda MLPA® Multiplex Ligation Probe  
Amplification

# 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 dědičnost

- Fenotyp se obvykle objevuje v každé generaci, každý postižený jedinec má postiženého rodiče.
- V klinické genetice se objevují tyto výjimky nebo zdánlivé výjimky z uvedeného pravidla:
  - a) případy vzniklé na základě nových mutací v gametě fenotypově normálního rodiče,
  - b) případy, kdy není postižení u rodiče exprimováno - nepenetruje, neprojevuje se nebo je u jedince, který zdědil příslušný gen, exprimováno jen mírně.

# Autosomálně Dominantní dědičnosť

- Každé dítě postiženého rodiče má 50% riziko, že znak zdědí. Toto platí pro většinu rodin, v nichž je druhý rodič fenotypově normální. Statisticky je každý člen rodiny výsledkem „náhodné události“, a proto může dojít v jedné rodině k výraznému posunu od očekávaného poměru 1:1.



# Autosomálně Dominantní dědičnist

- Fenotypově normální členové rodiny nepřenáší patologický fenotyp na své děti. Selhání penetrance nebo velmi mírná exprese postižení může vést ke zdánlivé výjimce z tohoto pravidla.
- Muži a ženy mají stejnou pravděpodobnost, že předají fenotyp dětem obou pohlaví, riziko onemocnění je pro obě pohlaví stejné.
- Významnou část izolovaných případů mají na svědomí nové mutace.

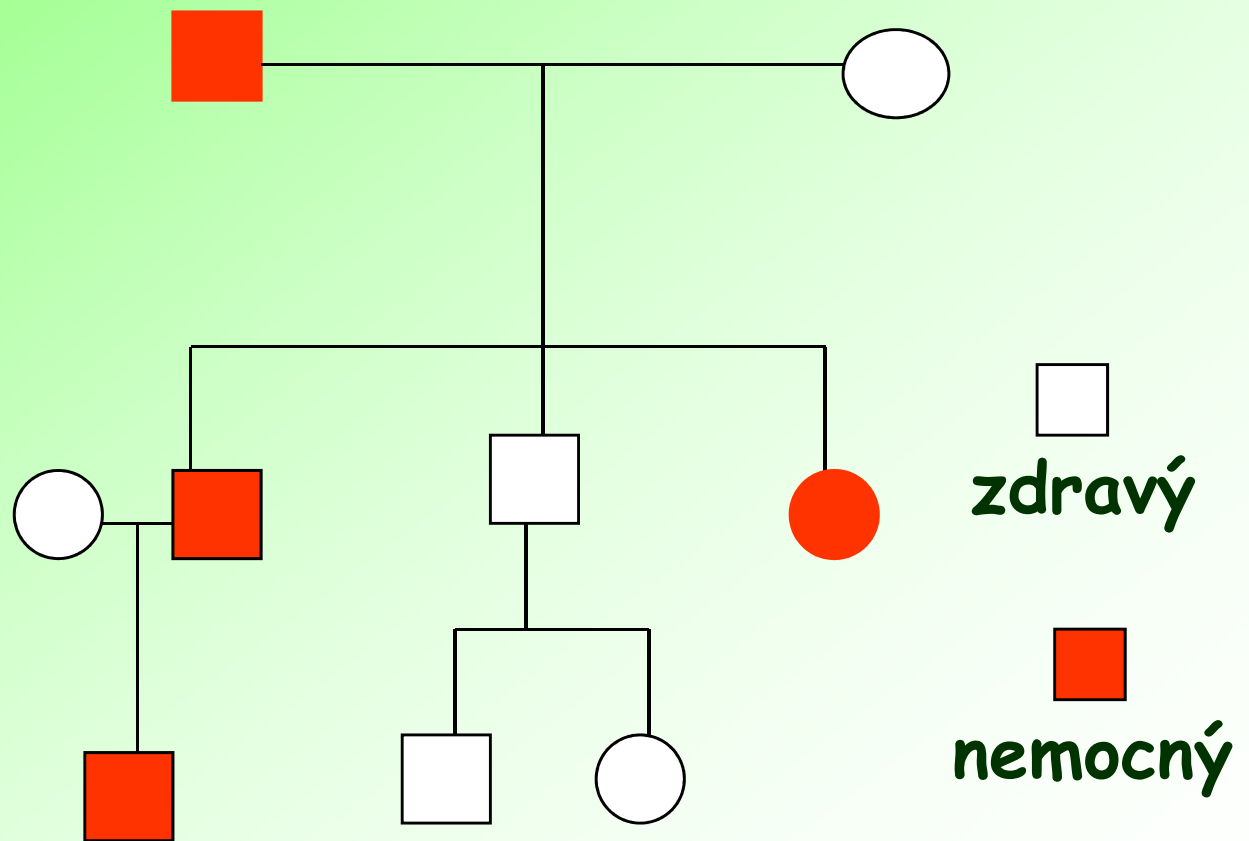
# Autosomálně Dominantní

- 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

# 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

# Neurofibromatosa 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 (mutace v tumor - supresorovém genu)
- časté neurologické nebo oční poruchy
- často anomálie skeletu
- PMR asi v 10%
- makrokranie, neurofibrom víčka, zákal rohovky, Lishovy uzlíky na iris

# 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



- **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

# 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 srmt
- diagnostika
- vyhledávání nosičů mutace v rodinách
- preventivní terapie pozitivně testovaných na kardiologii
- prenatální diagnostika - málo využívaná

# Trombofilie

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

# 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

# Molekulární biologie

- Metodiky využívané stále častěji 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 testování - onemocnění s pozdním nástupem klinických příznaků, onkologie
- Vyhledávání zdravých nosičů patologické alely
- 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

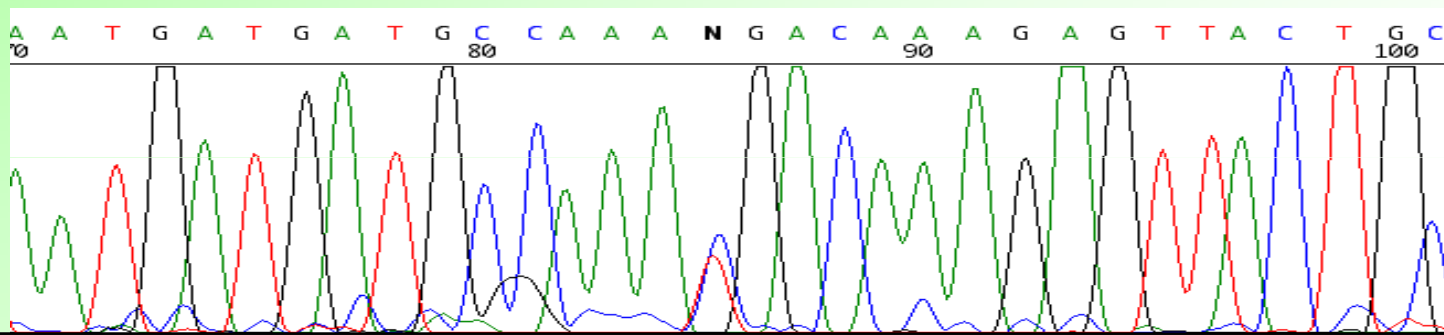


# Molekulárně genetické vyšetření

- 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

# Genetická prevence u monogenních dědičných chorob

- potvrzení klinického stavu na molekulární úrovni
- časná diagnostika
- vyhledávání heterozygotů (AR, XR)
- prenatální diagnostika
- presymptomatické testy
- genetické poradenství, preventivní léčba, je-li možná



# 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 vždy se souhlasem pacienta nebo rodiny.
- Umožňuje zachování vzácného materiálu, který v budoucnu může umožnit rodinám využít diagnostické, presymptomatické či prenatální vyšetření