

U všech novorozenců narozených na uzemi ČR se provádí **laboratorní screening vrozených onemocnění**, jehož cílem je **rychlá diagnostika a včasná léčba**.

V rámci novorozeneckého laboratorního screeningu jsou vyšetřována uvedená onemocnění:

• **Endokrinní onemocnění (EO):**

a) kongenitální hypotyreóza (CH)

b) **kongenitální adrenální hyperplazie (CAH)**

• **Dědičné poruchy metabolismu (DMP):**

c) **fenyketonurie (PKU) a hyperfenylalaninémie (HPA)**

d) leucinoza (nemoc javorového sirupu, MSUD)

e) izovalerová acidurie (IVA)

f) deficit acyl-CoA dehydrogenazy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (MCAD)

g) deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenazy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LCHAD)

h) deficit acyl-CoA dehydrogenazy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLCAD)

i) deficit karnitinpalmitoyltransferazy I (CPT I)

j) deficit karnitinpalmitoyltransferazy II (CPT II)

k) deficit karnitinacylkarnitintranslokazy (CACT)

l) glutarová acidurie typ I (GA I)

• **Jiná onemocnění:**

m) cystická fibróza (CF)

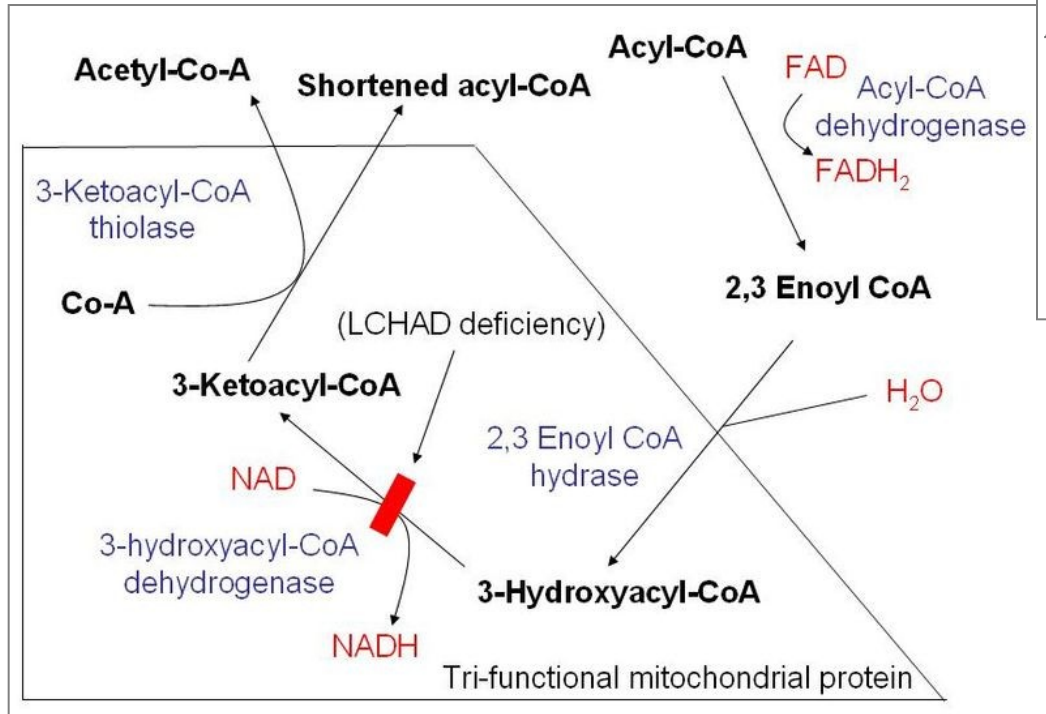


Dědičné poruchy metabolismu (DMP):

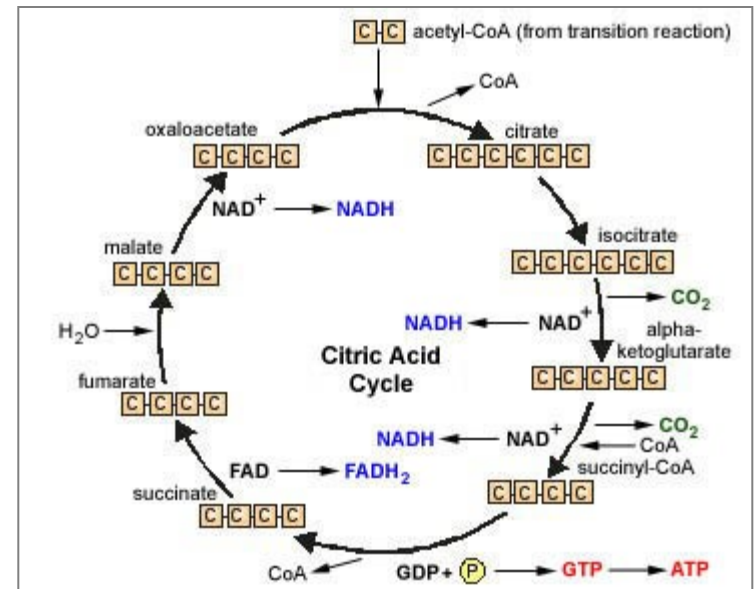
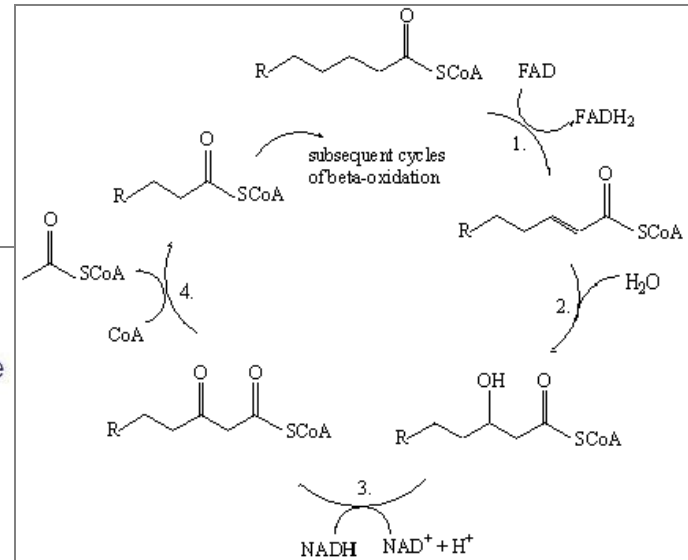
- **fenylketonurie** (PKU), **hyperfenylalaninemie** (HPA) – neschopnost metabolizovat fenylalanin
- **leucinóza** – neschopnost metabolizovat větvené aminokyseliny (leucin, izoleucin a valin)
- **izovalerova acidurie** – neschopnost metabolizovat leucin
- **glutarova acidurie, typ I** – neschopnost metabolizovat lysin a tryptofan

Beta-oxidace mastných kyselin (mastné kyseliny ve formě Acyl-CoA jsou metabolizovány v mitochondriích a vytváří Acetyl-CoA, který vstupuje do Citrátového cyklu – tvorba ATP) - **BOX MK** nastupuje během delšího hladovění a/nebo období zvýšených energetických nároků (horečka, stres), kdy produkce energie je z větší části závislá na metabolismu tuků. Při defektech **BOX MK** dochází k nahromadění mastných kyselin a jejich potenciálně toxických derivátů z důvodu poruchy v jednom z mitochondriálních enzymů potřebných pro **BOX MK**.

- deficit acyl-CoA dehydrogenazy mastnych kyselin se středně dlouhým řetězcem
- deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenazy mastnych kyselin s dlouhým řetězcem
- deficit acyl-CoA dehydrogenazy mastnych kyselin s velmi dlouhým řetězcem
- deficit karnitinpalmitoyltransferázy I
- deficit karnitinpalmitoyltransferázy II
- deficit karnitinacylkarnitintranslokázy



Beta oxidation fatty acids



Citric acid cycle

Fenylketonurie a hyperfenylalaninemie

Nález při novorozeneckém screeningu: zvýšený fenylalanin a poměr Phe/Tyr

Diferenciální diagnóza: deficit fenylalaninhydroxylázy; poruchy biosyntézy a recyklace tetrahydrobiopterinu

Popis stavu: nahromadění fenylalaninu a nedostatek tyrosinu vedou k poruše v syntéze neurotransmiterů.

Dědičnost: autosomálně recesivní

Incidence: 1 : 13 000 (v ČR 1 : 6,500)

Gen: phenylalaninhydroxylase, PAH

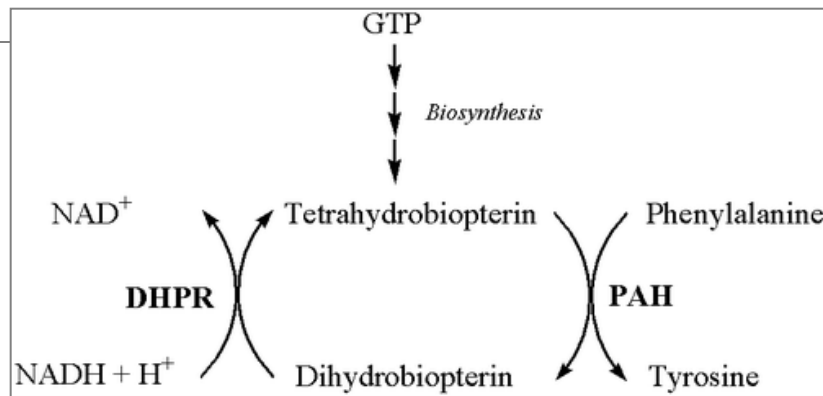
Nástup symptomů: Obvykle kolem 6 měsíců věku, ale může být variabilní.

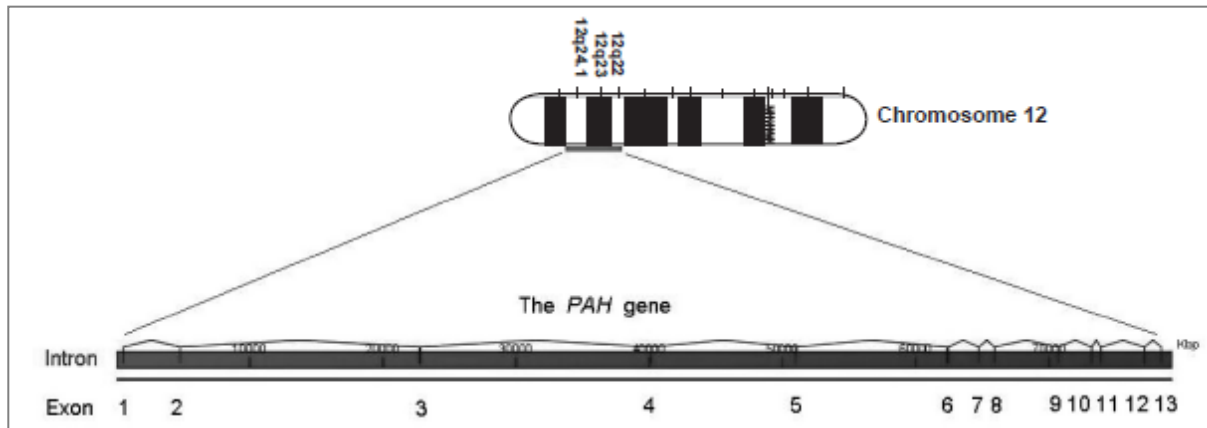
Symptomy: Pozvolná mentální retardace, začínající po porodu, ale obvykle není zjevná před šestým měsícem života. Rozsah retardace je závislý na stupni enzymového deficitu a na tom, jak dlouho byl mozek vystavený zvýšené hladině fenylalaninu.

Léčba: Standardní péče je léčba všech osob s hladinou fenylalaninu nad cca 350-400 $\mu\text{mol/l}$, spočívá v nízkobílkovinné dietě s omezením fenylalaninu a podáváním směsi aminokyselin bez fenylalaninu. Dieta je doporučována po celý život a její dodržování je považováno za nejdůležitější faktor normálního vývoje mozku. Jako experimentální a nové postupy se objevuje podávání sapropterinu (syntetický derivát tetrahydrobiopterinu), podávání velkých neutrálních aminokyselin (LNAA), které kompetitivně blokují transport fenylalaninu do mozku.

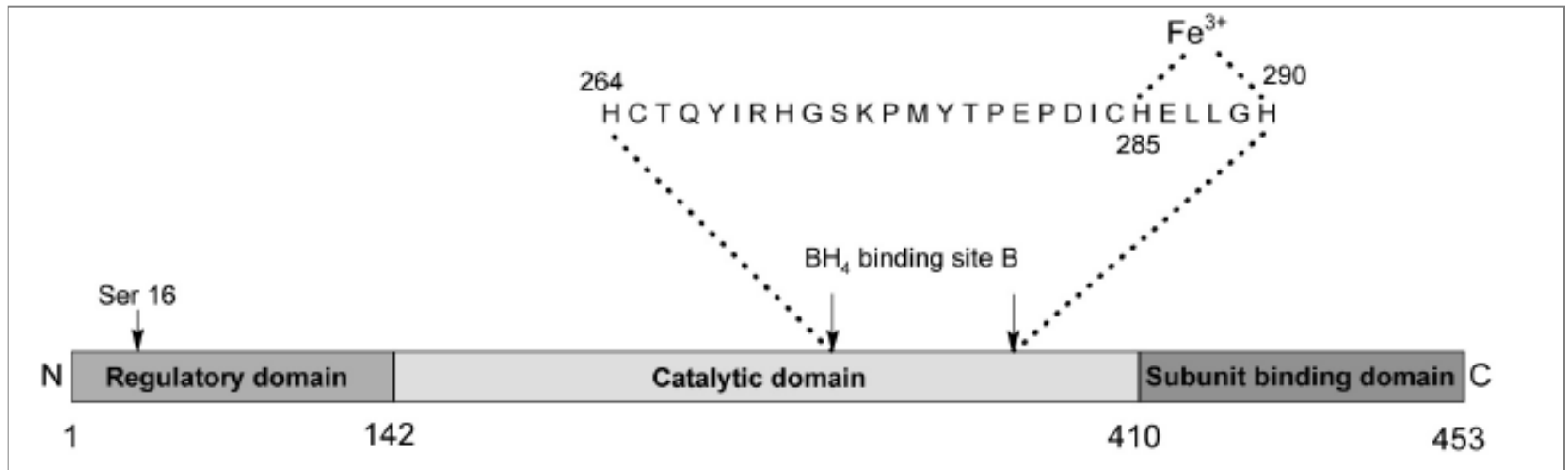
Průběh onemocnění bez léčby: Většinou těžká mentální retardace.

Průběh onemocnění s léčbou: Není mentální retardace, mohou mít specifické problémy v učení. Při přerušení diety se sníženým obsahem fenylalaninu dochází k poklesu IQ, poruchám chování a soustředění, objevuje se ekzém a křeče. Ženy fenylketonuričky mají 95% šanci narození poškozeného dítěte (mikrocefalie a postižení mozku plodu, vrozené srdeční vady), jestliže nedrží přísnou dietu během těhotenství.



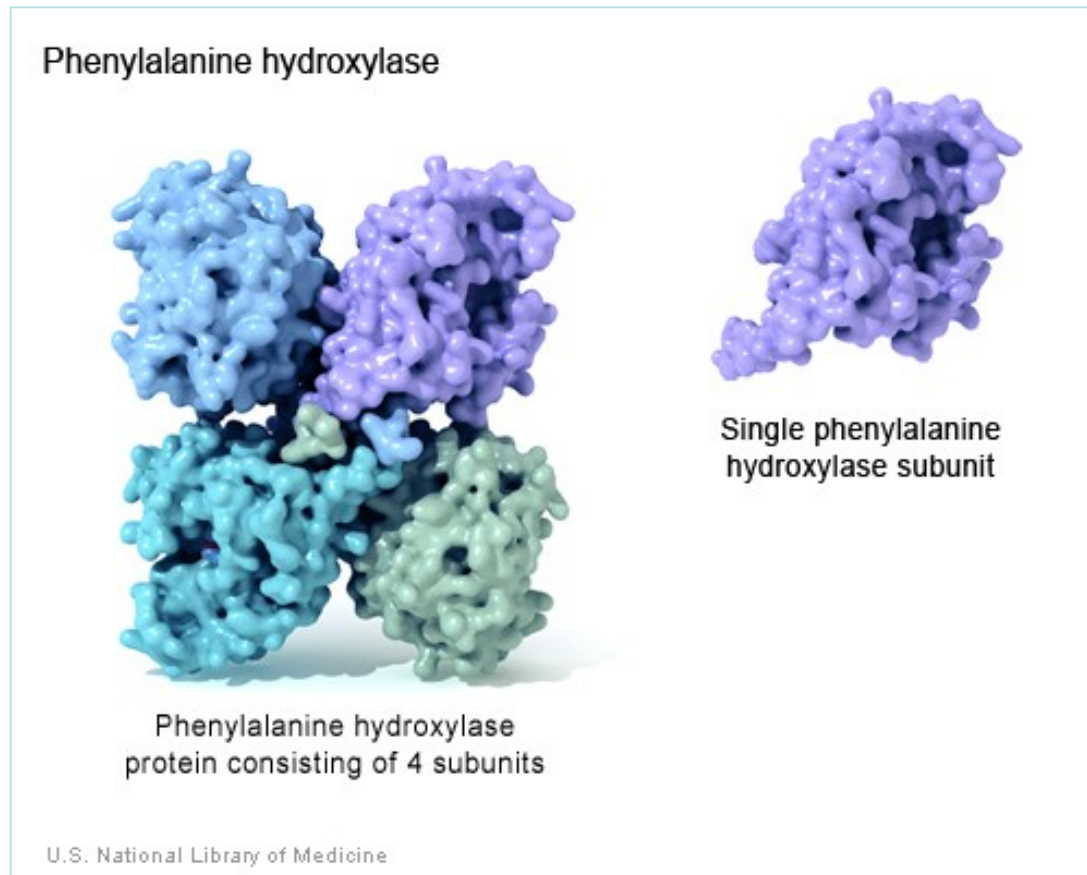


The basic structure of the human phenylalanine hydroxylase (*PAH*) gene. Chromosome 12 (12q23.2), 13 exons which encode a polypeptide of 452 amino acids.

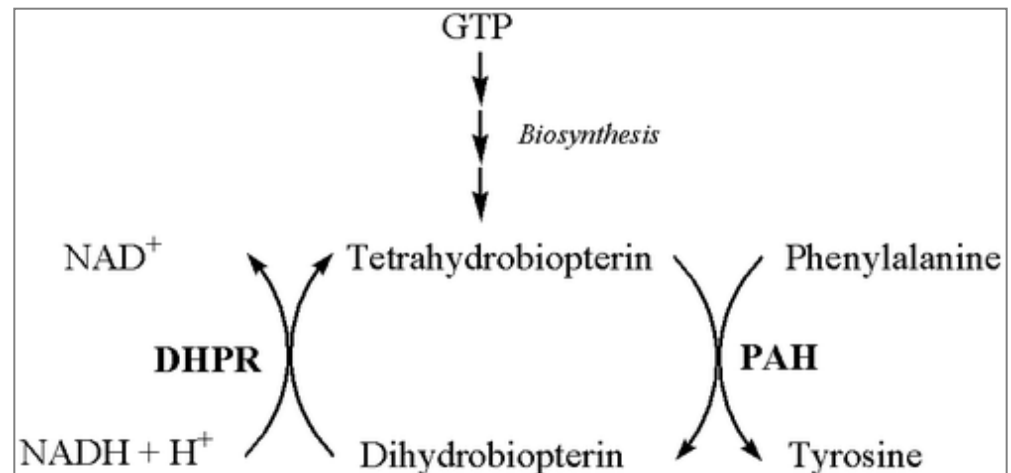
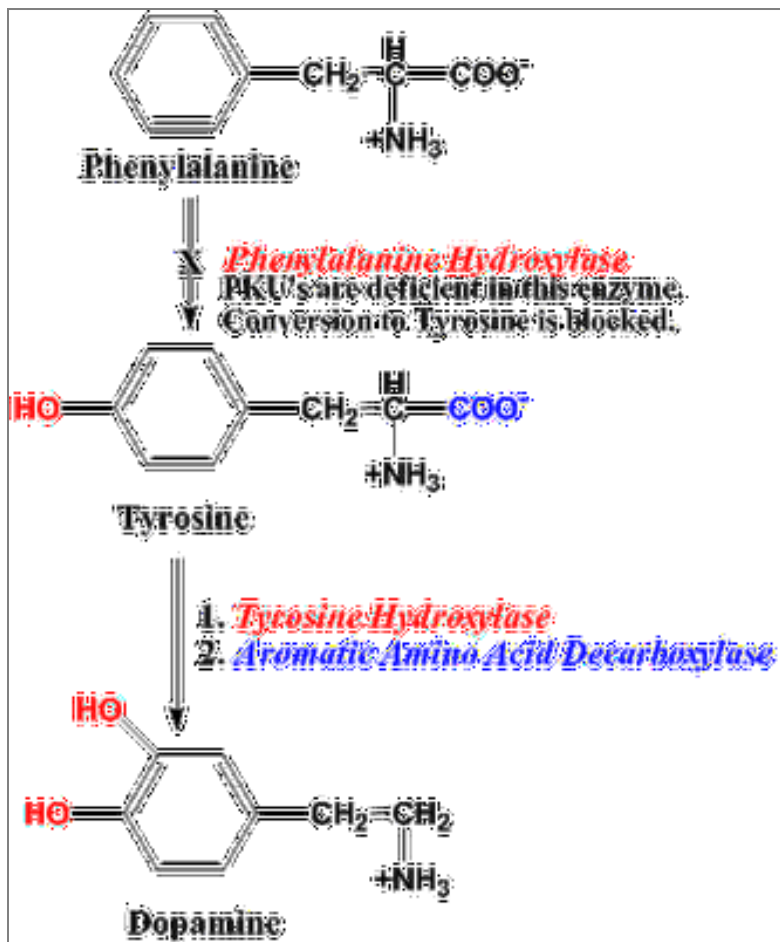


Structural domains of PAH. The catalytic domain of PAH contains a motif of 26 or 27 amino acids which are responsible for ferric iron and cofactor (BH₄) binding.

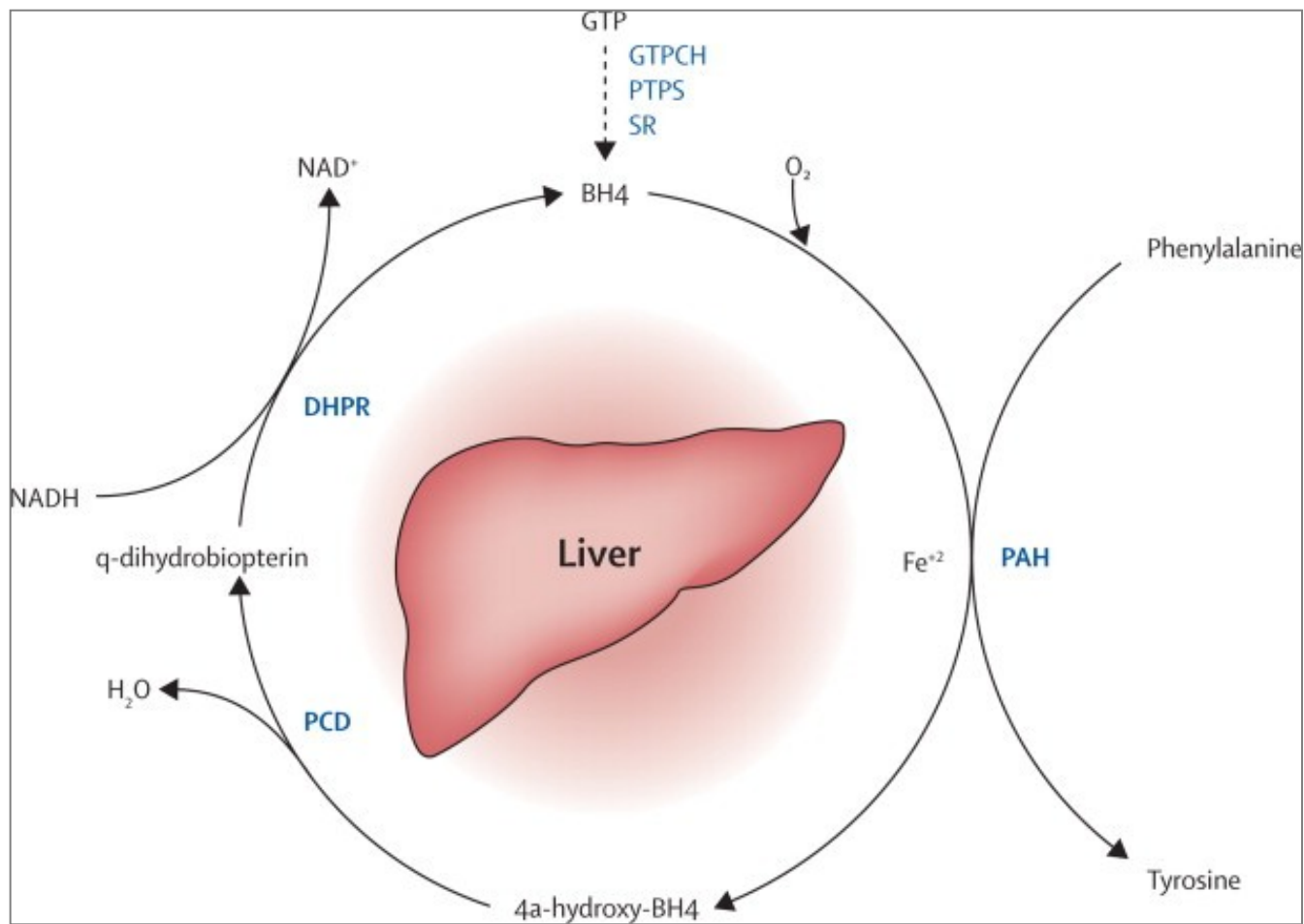
- Phenylalanine hydroxylase (PAH) is a homotetrameric enzyme.
- Each subunit is composed of three functional domains: the N-terminal regulatory domain; the catalytic domain, which includes binding sites for substrate and cofactor; and the oligomerization domain at the C terminus.
- **PAH mutations can lead to misfolding**, with aggregation and/or disturbed tetramer assembly.



PAH converts phenylalanine into tyrosine and requires the cofactor **tetrahydrobiopterin (BH4), molecular oxygen, and iron** to do so. Loss of PAH activity results in increased concentrations of phenylalanine.



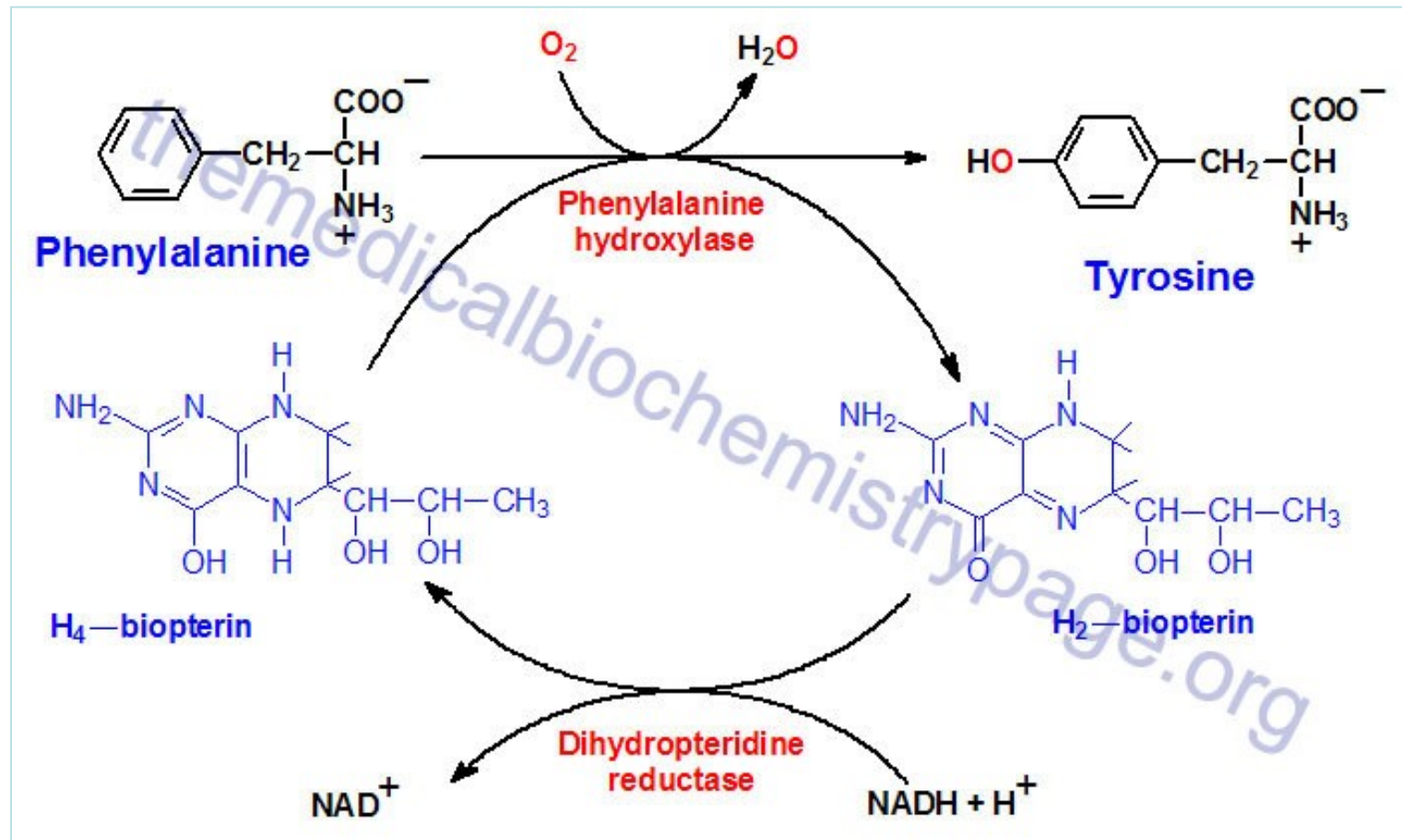
Simplified Pathway for Phenylalanine Metabolism



*Lancet 2010; 376:
1417–27*

During the hydroxylation of phenylalanine by **PAH** (molecular oxygen O₂ and iron Fe²⁺ are present), tetrahydrobiopterin (BH₄) is oxidised to 4a-hydroxy-BH₄ intermediate, which is subsequently regenerated back to BH₄ via quinonoid (q) dihydrobiopterin by the enzymes **carbinolamine-4a-dehydratase (PCD)** and by the NADH-dependent **dihydropteridine reductase (DHPR)**. BH₄ is synthesised from guanosine triphosphate (GTP) by three additional enzymes **GTP cyclohydrolase I (GTPCH)**, **6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase (PTPS)**, and **sepiapterin reductase (SR)**. Mutations in genes coding for **PCD, DHPR, GTPCH, PTPS, and SR** result in BH₄ deficiency.

Phenylketonuria (PKU, HPA), an autosomal recessive inherited disorder characterized by defective or deficient PAH, is the cause of almost all (about 98%) cases of hyperphenylalaninemia (HPA). About 1–2% of cases of hyperphenylalaninaemia are due to mutations in genes coding for enzymes involved in BH4 biosynthesis or regeneration.



Until the 1960s, most children born with phenylketonuria became profoundly mentally disabled.

The foundations for the early detection and modern management of phenylketonuria were laid by three key findings:

- In the 1930s, Asbjorn Folling identified raised levels of phenylalanine in the blood as the underlying cause of the neuropsychological deficits.
- In the 1950s, Horst Bickel introduced a low-phenylalanine diet to treat phenylketonuria.
- In the 1960s, Robert Guthrie introduced a diagnostic test suitable for mass screening for hyperphenylalaninaemia (the Guthrie test).

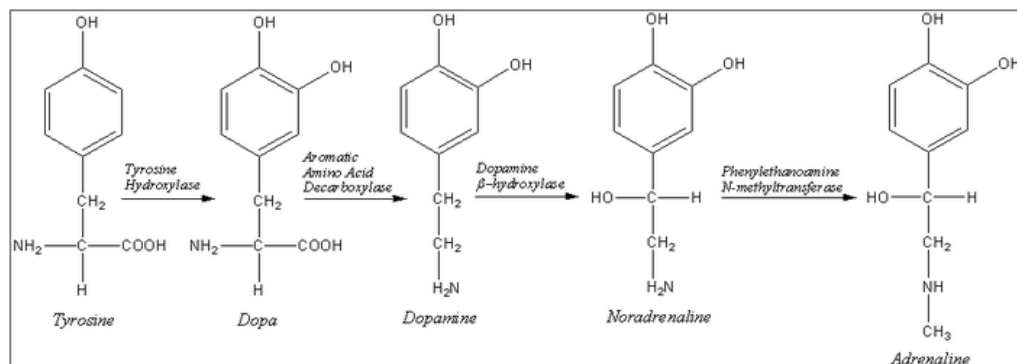
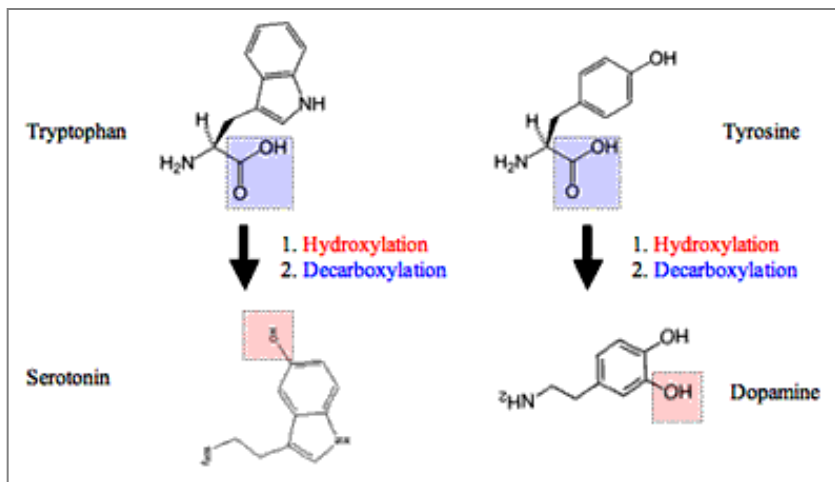
Nowadays, many countries around the world include a test for hyperphenylalaninaemia in neonatal screening programmes - the Guthrie test or more modern systems based on **tandem mass spectrometry**.

Little or no PAH enzyme activity results in **the classic phenylketonuria phenotype**. Other mutations only partly inhibit enzyme activity, giving rise to **mild phenylketonuria or mild hyperphenylalaninaemia**.

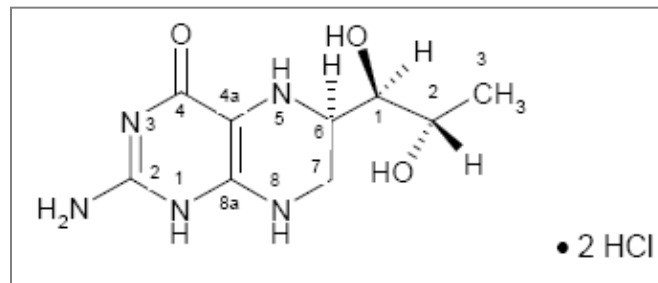
- The normal range of blood phenylalanine concentrations is 50–110 $\mu\text{mol/L}$.
- Individuals with blood phenylalanine concentrations of 120–600 $\mu\text{mol/L}$ before starting treatment are classified as having **mild hyperphenylalaninaemia**.
- Individuals with blood phenylalanine concentrations of 600–1200 $\mu\text{mol/L}$ are classified as **mild phenylketonuria**.
- Individuals with blood phenylalanine concentrations above 1200 $\mu\text{mol/L}$ denote **classic phenylketonuria**.

A number of factors have been proposed as contributing to the neurotoxicity in PKU:

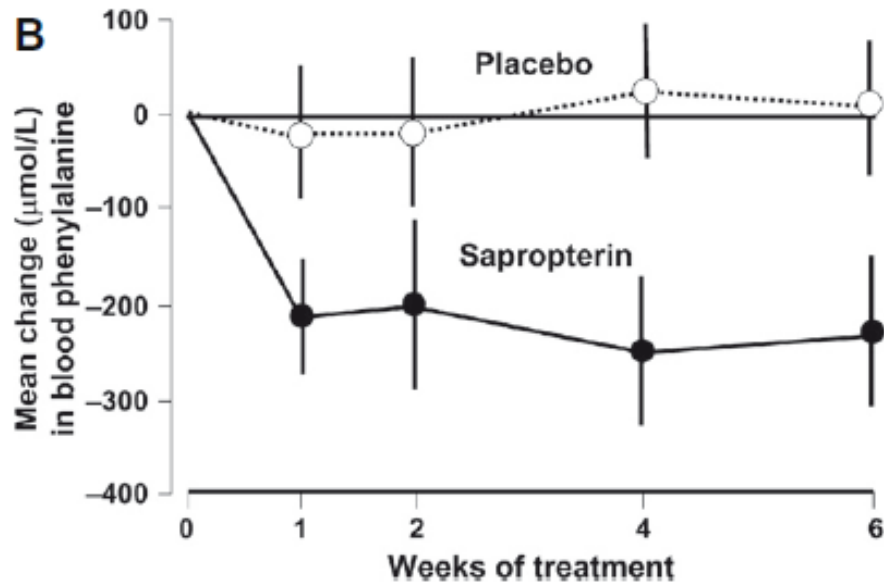
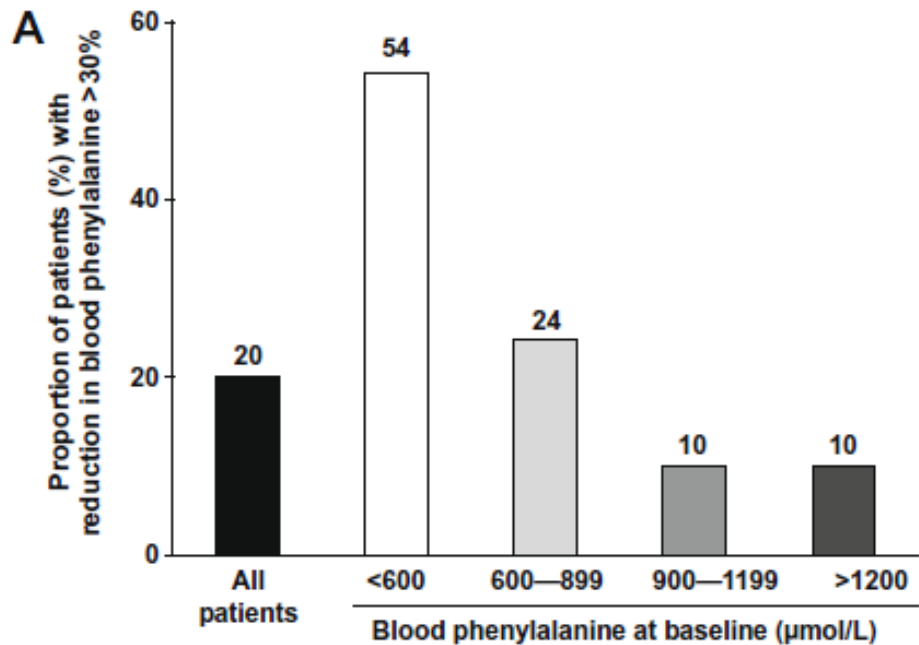
- Although PAH deficiency occurs at the hepatic level, the clinical effects of hyperphenylalaninaemia are on brain development and function.
- The primary consequence of increased blood Phe is **increased brain Phe**.
- The second consequence, resulting from **the competition** that exists between **Phe** and **all the other large neutral amino acids (LNAA)** for transport at the **blood brain barrier level** (the amino acid transporter LAT1). **Phe** has the **highest affinity for LAT1**. Thus, high plasma Phe concentrations impairs uptake of the other LNAA into the brain → a disturbance in brain uptake of the other LNAA.
- **The competition for LAT1 has the effect of blocking transport tyrosine and tryptophane (precursors of dopamine and serotonin, resp.).**



- The observation that **levels of Phe can be reduced** significantly by administration of **exogenous BH4** in a subset of patients with HPA raises the prospect of pharmacologic management of HPA.
- The response to BH4 therapy, dependent upon **PAH gene mutation(s)**. About one third of HPA patients (mostly those with mild phenotypes) have been estimated to be potential candidates for BH4 treatment.
- Sapropterin dihydrochloride (Kuvan, Biomarin Pharma) is an orally active synthetic form of BH4. Clinical trials have shown that Kuvan is a safe and effective therapy in selected patients with mild-to-moderate HPA.



Sapropterin dihydrochloride

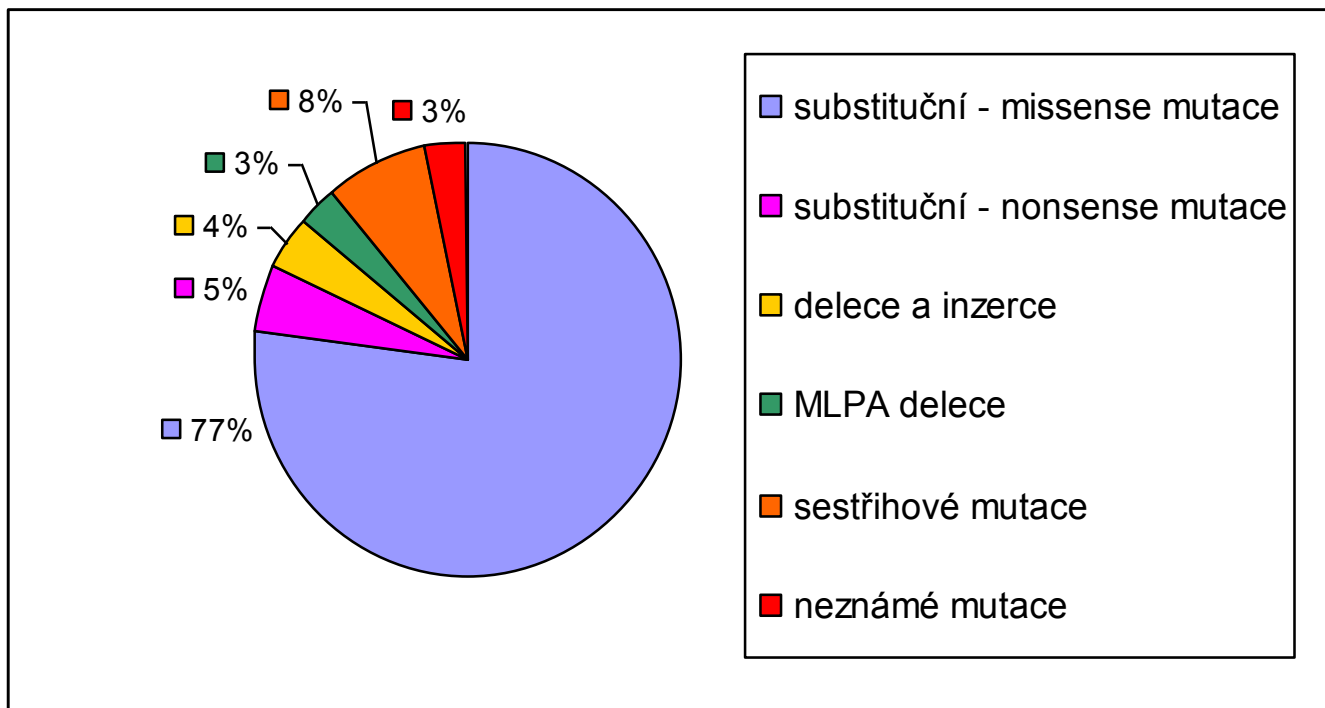


Efficacy of sapropterin dihydrochloride in the management of phenylketonuria. (A) Response rates (%) according to blood phenylalanine levels before sapropterin treatment (10 mg/kg/day) over a period of 8 days.

(B) Randomized comparison of the effect of sapropterin dihydrochloride and placebo on blood phenylalanine levels in responders to sapropterin therapy (10 mg/kg/day) over a period of 6 weeks.

Mutace v našem souboru pacientů s HPA

Počet pacientů: 642
(počet alel s mutací: 1245)



Počet alel nesoucích missense mutací: 982

- z toho - alely s BH4 responzivní mutací: 233 (23,7%)

Počet potenciálně BH4-responzivních pacientů: 203 (31,6%)

Endokrinní onemocnění:

- kongenitální hypotyreóza
- kongenitální adrenální hyperplazie

Kongenitální hypotyreóza (CH)

Nález při novorozeneckém screeningu: zvýšený tyreotropní hormon (hormon syntetizovaný v adenohipofýze, uvolňuje hormony štítné žlázy do krve).

Popis stavu: snížená tvorba hormonů štítné žlázy (tyroxin, trijodthyronin).

Etiologie: v 80% porucha prenatálního vývoje štítné žlázy.

Dědičnost: Příčiny CH jsou multifaktoriální, u 5% lze předpokládat autozomálně recesivní dědičnost na pokladě mutací v genech pro jodidové transportéry, enzymatické systémy a tyreoglobulin a mutace v genech pro transkripční faktory.

Incidence: celosvětově 1 : 3 000 - 4 000

Důsledek nedostatku hormonu: Hypotyroxiemie vede ke zpomalení metabolismu, růstu, poruše vývoje centrálního nervového systému a těžké psychomotorické retardaci.

Léčba: substituce levothyroxinem.

Průběh onemocnění bez léčby: těžká psychomotorická retardace, neurologické symptomy, porucha růstu.

Průběh onemocnění s léčbou: normální kvalita života.

Kongenitální adrenální hyperplazie (CAH)

Nález při novorozeneckém screeningu: zvýšený 17-hydroxyprogesteron

Popis stavu: deficit 21-hydroxylázy (11-beta-hydroxylázy), **nedostatek kortizolu a aldosteronu, nadbytek androgenů (testosteron)**

Dědičnost: autosomálně recesivní

Incidence: 1:10 000 - 1:15 000 v Evropě (v ČR 1 : 11 000, Eskymáci na Aljašce 1:280)

Symptomy: u dívek již při narození obojetný genitál, virilizace genitálu různého stupně dle Pradera (Prader I = hypertrofie klitoris až Prader V = chlapecký genitál bez přítomnosti testes);

další symptomy dle formy buď v 2.-4. týdnu života u formy se solnou poruchou (*salt wastig*) - zvracení, apatie, hypotonie, křeče, porucha vědomí, úmrtí v rámci metabolického rozvratu -

nebo v 3.-8. roce života u formy bez solné poruchy (*simple virilizing*) – předčasná puberta,

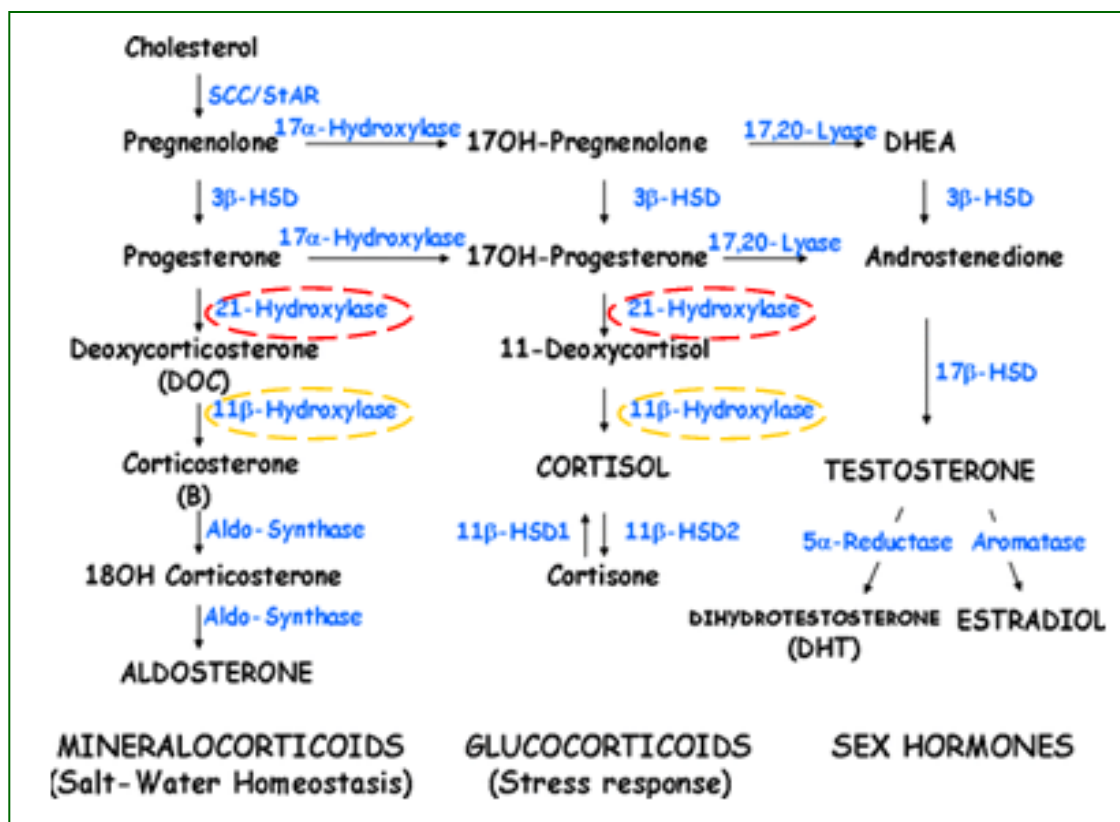
redukce finální dospělé výšky,

hyperpigmentace, riziko úmrtí v akutní zátěžové situaci,

Léčba: substituce glukokortikoidy a mineralokortikoidy.

Průběh onemocnění s léčbou:

normální kvalita života, u dívek operace s cílem normalizace vzhledu a funkce genitálu, fertilita zachována.



Deficit 21-hydroxylázy (21-OHD):

- způsoben mutacemi v genu **CYP21A2**
- **CYP21A2** gen a **CYP21A1P** pseudogen, lokalizace na chromozómu 6p21.3
- **CYP21A2** a **CYP21A1P**: každý obsahuje 10 exonů, nukleotidové sekvence jsou v exonech identické z 98% a v intronech z 96%
- incidence v ČR 1: 11 000
- Typy mutací v genu **CYP21A2**: **rekombinace mezi CYP21A2 genem a CYP21A1P pseudogenem (95%), nově vzniklé mutace v genu CYP21A2 (5%)**

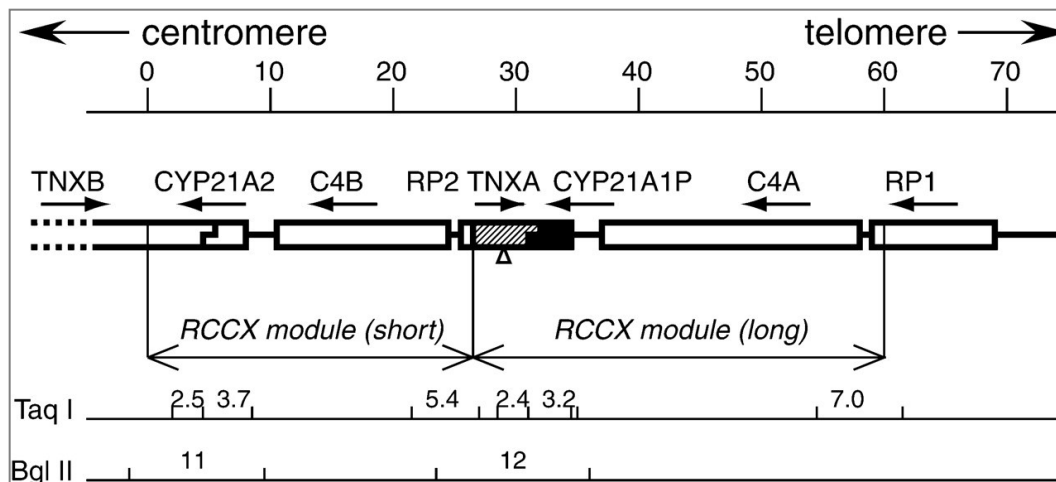


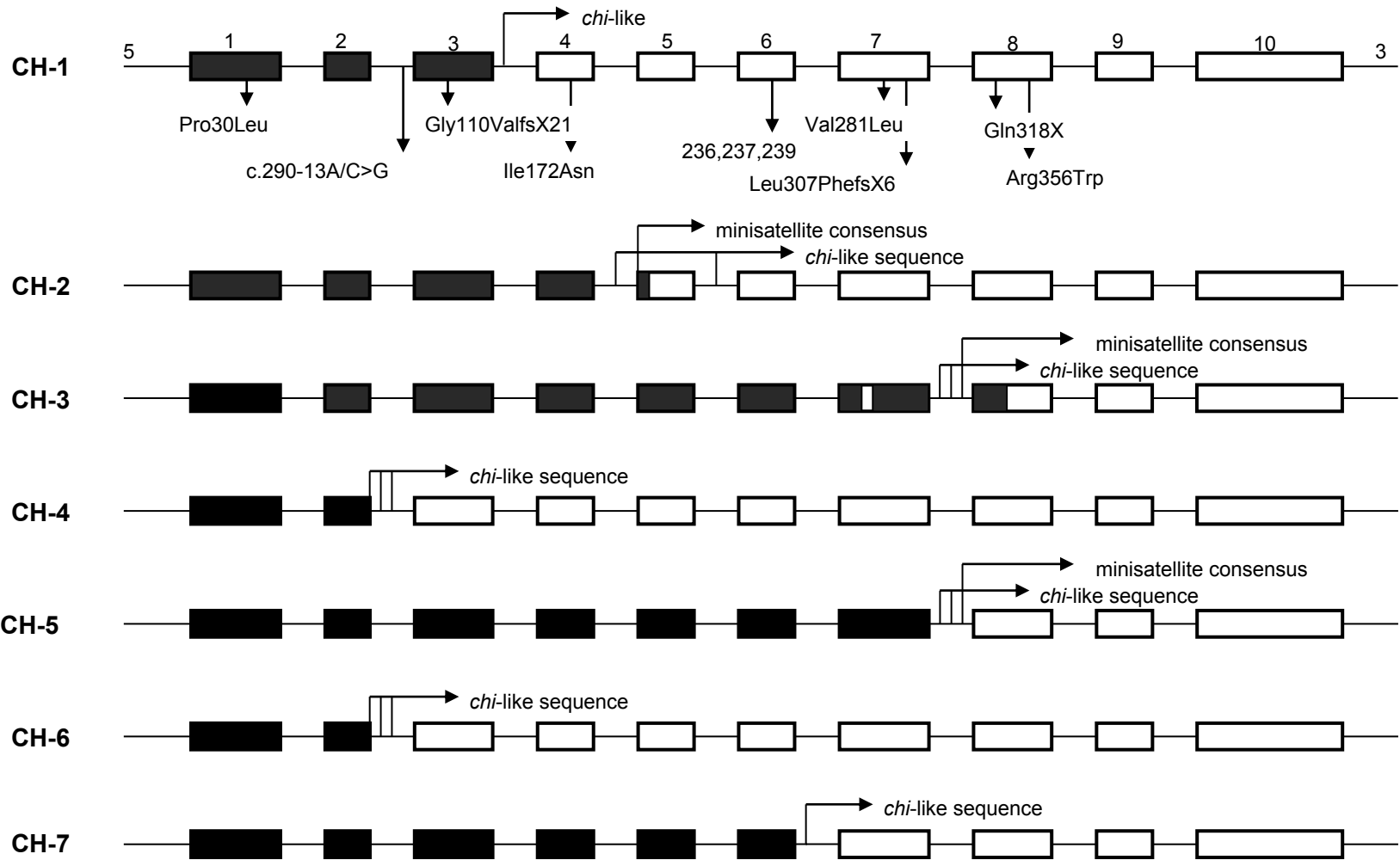
Table 1 | Interlocus gene-conversion events that cause human inherited disease* (part 1)

Disease/phenotype	Donor gene [‡]	Acceptor gene	Chromosomal localization	Directionality [§]	Mutation	Converted tract length (bp)
Atypical haemolytic uraemic syndrome	<i>CFHR1</i> ^{§§}	<i>CFH</i>	1q32	3'>5'	c.[3572C>T;3590T>C] [¶]	19–331
Congenital adrenal hyperplasia	<i>CYP21A1P</i>	<i>CYP21A2</i>	6p21.3	5'>3'	[-209T>C;-198C>T;-189/-188insT]	21–155
					[-4C>T;92C>T;118T>C;138A>C]	142–523
					[1380T>A;1383T>A;1389T>A; IVS6+12_13AC>GT]	42–210
					[1688G>T;1767_1768insT] [¶]	80–202
Syndrome of corticosterone methyloxidase II deficiency	<i>CYP11B1</i> ^{§§}	<i>CYP11B2</i>	8q21–q22	3'>5'	Conversion of exons 3 and 4	446–626
Increased 18-hydroxycortisol production	<i>CYP11B1</i> ^{§§}	<i>CYP11B2</i>	8q21–q22	3'>5'	Conversion of two nucleotides separated by two bases in exon 8	4–56
Autosomal dominant cataract	<i>CRYBP1</i>	<i>CRYBB2</i>	22q11.2–q12.1	3'>5'	c.[475C>T;483C>T]	9–104
Neural tube defects	<i>FOLR1P</i>	<i>FOLR1</i>	11q13.3–q14.1	5'>3'	7497_7662 including 13 discriminant nucleotides [¶]	166–215
					[7539T>C;7541G>A] [¶]	3–65
Gaucher disease	<i>GBAP</i>	<i>GBA</i>	1q21	3'>5'	[del55bp;D409H;L444P;A456P;V460V]	604–974
					[D409H;L444P;A456P;V460V]	525–848
					[L444P;A456P]	36–175
					[L444P;A456P;V460V]	50–475
Short stature	<i>GH2</i> ^{§§}	<i>GH1</i>	17q22–q24	3'>5'	Conversion involving 12 discriminant nucleotides in the promoter region	40–218
Mild microcytosis	<i>HBB</i> ^{§§}	<i>HBD</i>	11p15.5	3'>5'	Conversion involving exons 1 and 2	≥212–≤348 [¶]
Hereditary persistence of fetal haemoglobin	<i>HBG2</i> ^{§§}	<i>HBG1</i>	11p15.5	5'>3'	Conversion involving 9 discriminant nucleotides in the promoter region [¶]	423–1554
Agammaglobulinaemia	<i>IGLL3</i>	<i>IGLL1</i>	22q11.23	Inverted ^{**}	c.[393T>C;420T>C;425C>T]	33–152
Chronic granulomatous disease	<i>NCF1B</i> or <i>NCF1C</i>	<i>NCF1</i>	7q11.23	5' or inverted ^{**}	[C>T;ΔGT]	124–1474
					[C>T;ΔGT;ins20bp]	369–1529
					[ΔGT;ins20bp]	247–423
Blue cone monochromacy	<i>OPN1MW</i> ^{§§}	<i>OPN1LW</i>	Xq28	3'>5'	3' limit of the maximal converted region cannot be defined owing to the lack of information on an intervening discriminant nucleotide	≥636–≤3676 [¶]
Autosomal dominant polycystic kidney disease	? ^{††}	<i>PKD1</i>	16p13.3	? ^{††}	[8446T>G;8490T>C;8493G>C;8502T>C]	57–126
					[8446T>G;8490T>C;8493G>C;8498C>G;8502T>C]	57–126
					[8639G>T;8651G>A;8658T>C;8662C>T]	24–230
Chronic pancreatitis	<i>PRSS2</i> ^{§§}	<i>PRSS1</i>	7q35	3'>5'	Conversion involving 22 discriminant nucleotides	289–457



Table 1 | Interlocus gene-conversion events that cause human inherited disease* (part 2)

Disease/phenotype	Donor gene [‡]	Acceptor gene	Chromosomal localization	Directionality [§]	Mutation	Converted tract length (bp)
Shwachman-Bodian-Diamond syndrome	SBDSP	SBDS	7q11.22	Inverted**	c.[129-443A>G;129-433G>A]	11–104
					c.[141C>T;183_184TA>CT]	44–217
					c.[141C>T;183_184TA>CT;201A>G]	61–276
					c.[141C>T;183_184TA>CT;201A>G;258+2T>C] [¶]	120–398
					c.[183_184TA>CT;201A>G]	19–118
					c.[183_184TA>CT;201A>G;258+2T>C]	78–240
					c.[201A>G;258+2T>C]	60–197
Spinal muscular atrophy	SMN2	SMN1	5q13.2	5'>3'	Conversion of exon 7 and intron 7	264–776
von Willebrand disease	VWFP	VWF	22q11.22–q11.23 (VWFP)/12p13.3 (VWF)	Not applicable	[IVS27-45C>T;IVS27-36C>T;3686T>G;3692A>C]	63–131
					c.[3686T>G;3692A>C]	7–95
					c.[3686T>G;3692A>C;3735G>A;3789G>A;3797C>T]	112–195
					c.[3789G>A;3797C>T]	9–99
					c.[3789G>A;3797C>T;3835G>A]	47–195
					c.[3789G>A;3797C>T;3835G>A;3931C>T;3951C>T]	163–291
					c.[3835G>A;3931C>T;3951C>T]	117–229
					c.[3835G>A;3931C>T;3951C>T;4027A>G;4079T>C;4105T>A]	271–335
					c.[3931C>T;3951C>T]	21–191
c.[3931C>T;3951C>T;4027A>G;4079T>C;4105T>A]	175–297					



Types of chimeric *CYP21A1P/CYP21A2* genes. The structure of the functional *CYP21A2* gene is depicted by white boxes; black boxes represent the nonfunctional *CYP21A1P* pseudogene. The arrows indicate mutations which exist in *CYP21A1P*. 236/237/239 depicts mutations p.Ile236Asn, p.Val237Glu, and p.Met239Lys, these mutations always occur together. In CH-4, the *CYP21A1P-CYP21A2* junction site is localised inside intron 2 upstream of c.290-13A/C>G. In CH-6, the *CYP21A1P-CYP21A2* junction site is localised between mutations c.290-13A/C>G and p.Gly110ValfsX2.

Klinické formy 21-OHD

1. Klasická se solnou poruchou (Salt Wasting)

enzymová aktivita: 0% normální aktivity

nejčastější mutace: **p.Q318X, p.G110VfsX21, klastr tří mutací v exonu 6, p.R356W, chimérní gen a delece genu**

2. Prostá virilizující (Simple Virilizing)

enzymová aktivita: 1% normální aktivity

nejčastější mutace: **p.I172N a c.290-13A/C>G**

3. Neklasická (Non Classic-late onset)

enzymová aktivita: 20-50% normální aktivity

nejčastější mutace: **p.P30L a p.V281L**

Naše výsledky u 21-OHD

♣ DNA analýza provedena u 267 nepříbuzných pacientů:

→ diagnóza potvrzena u 241 probandů

→ u 26 pacientů identifikována pouze 1 mutantní alela

⇒ **charakterizováno celkem 30 typů mutantních alel**

- 60% bodové mutace - 58,6% z *CYP21A1P* (24 % c.290-13A/C>G)
- 2,4% nově vzniklé mutace
- 33,7% chimérní *CYP21A1P/CYP21A2* geny - 4 typy
- 4,9% delece *CYP21A2* genu
- 1,0% *CYP21A2* gen nesoucí 2 a více bodových mutací

INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE 26: 595-603, 2010

Identification of *CYP21A2* mutant alleles in Czech patients with 21-hydroxylase deficiency

ZUZANA VRZALOVÁ¹, ZUZANA HRUBÁ¹, EVA ŠTÁHLOVÁ HRABINCOVÁ¹, SLÁVKA POUCHLÁ¹, FELIX VOTAVA², STANISLAVA KOLOUSKOVÁ³ and LENKA FAJKUSOVÁ^{1,4}

¹Centre of Molecular Biology and Gene Therapy, University Hospital Brno, Cernopolní 9, CZ-62500 Brno;

²Department of Pediatrics, Third Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Kralovské Vinohrady, Srobarova 50, CZ-10034 Prague; ³Department of Pediatrics, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, V Úvalu 84, CZ-15006 Prague; ⁴Department of Functional Genomics and Proteomics, Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice 5, CZ-62500 Brno, Czech Republic

Received April 28, 2010; Accepted June 18, 2010



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medical Genetics

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmg>



Original article

Chimeric *CYP21A1P/CYP21A2* genes identified in Czech patients with congenital adrenal hyperplasia

Zuzana Vrzalová^a, Zuzana Hrubá^a, Eva Štáhlková Hrabincová^a, Slávka Vrābelová^a, Felix Votava^b, Stanislava Koloušková^c, Lenka Fajkusová^{a,d,*}

^aUniversity Hospital Brno, Centre of Molecular Biology and Gene Therapy, Cernopolní 9, CZ-62500 Brno, Czech Republic

^bDepartment of Pediatrics, 3rd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Kralovské Vinohrady, Srobarova 50, CZ-10034 Prague, Czech Republic

^cDepartment of Pediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, V Úvalu 84, CZ-15006 Prague, Czech Republic

^dMasaryk University, Faculty of Science, Institute of Experimental Biology, Dept. Functional Genomics and Proteomics, Kamenice 5, CZ-62500 Brno, Czech Republic

Kazuistika

deficitu 21-hydroxylázy

r. 2003

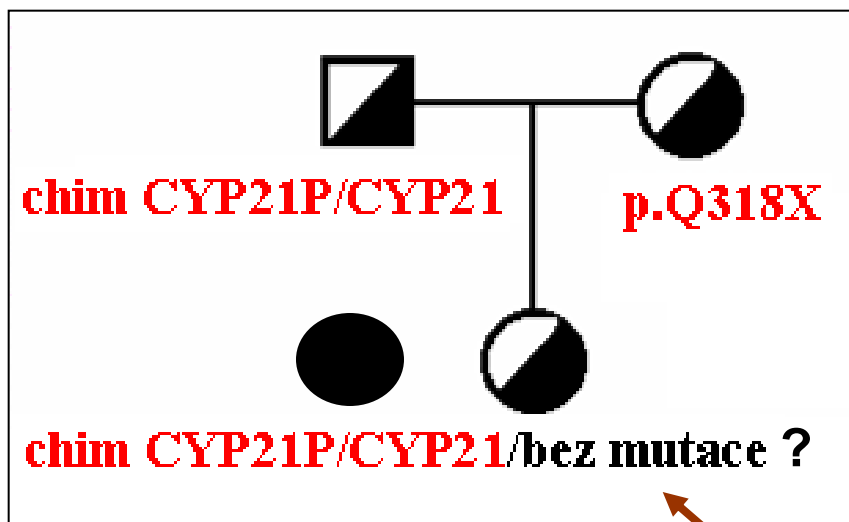
- žádost o DNA analýzu pro potvrzení diagnózy CAH u probandky a pro prenatální dg. (matka v 9. týdnu gravidity)
 - DNA byla dostupná od obou rodičů a postiženého dítěte: 7letá dívka, v 5 letech věku nástup předčasné puberty, středně virilizovaný zevní genitál, bazální 17-OHP > 133 nmol/l
- fenotyp: klasická forma bez solné poruchy

Výsledky DNA analýzy rodiny

1. genově selektivní LR PCR
2. PCR/ACRS - 10 mutací
3. LR PCR - delece genu

→ detekce bodové mutace **Q318X** v HT stavu
(8. exonu CYP21 genu)

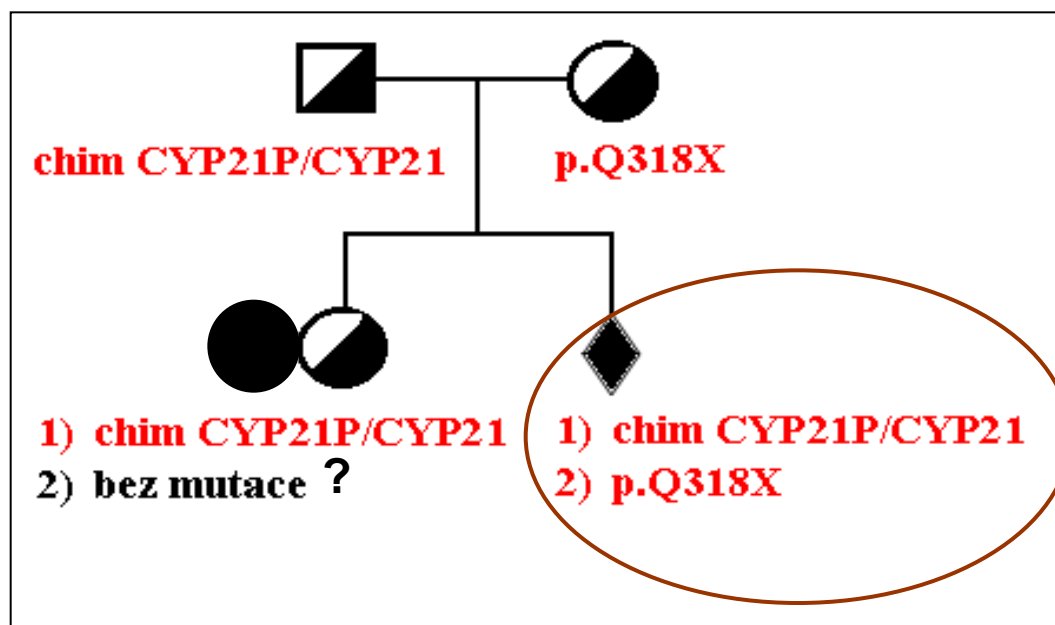
→ detekce **chimérodního**
CYP21P/CYP21 genu
v HT stavu



PROČ NASTALA
NESHODA MEZI
GENOTYPEM A
FENOTYPEM ???

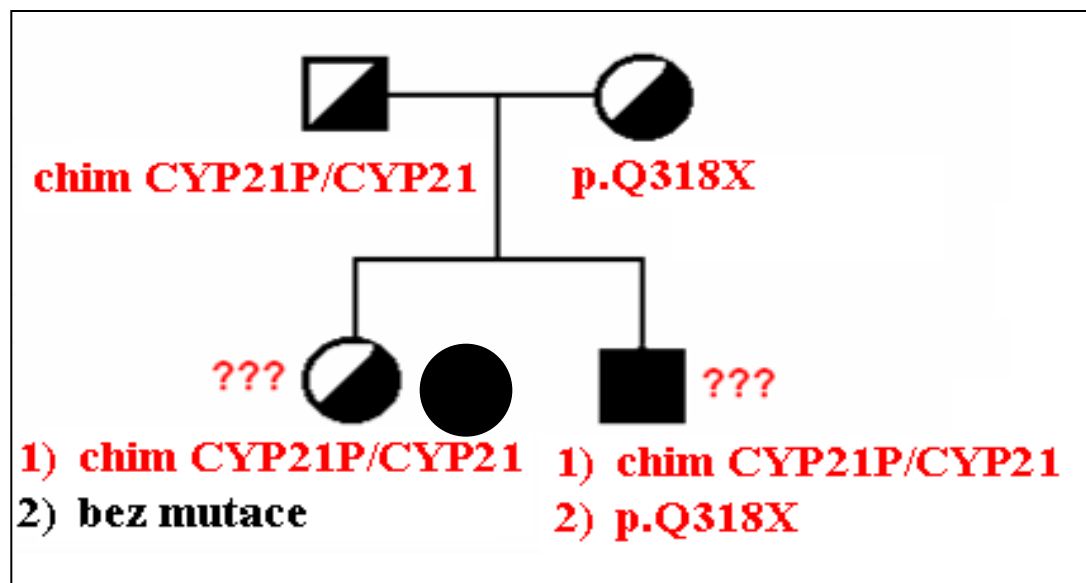
Rok 2003 - prenatální diagnostika

- kultivované AMC
- výsledný genotyp plodu odlišný od genotypu probandky



X biochemické stanovení plodové vody: negativní výsledek !!!
($C_{17-OHP}=4,81$ nmol/l; $N_{17-OHP}=3-17$ nmol/l)

Po narození syna bylo provedeno ověření genotypu z prenatální dg. - stejný výsledek, dítě však nemělo klinické projevy CAH !!!

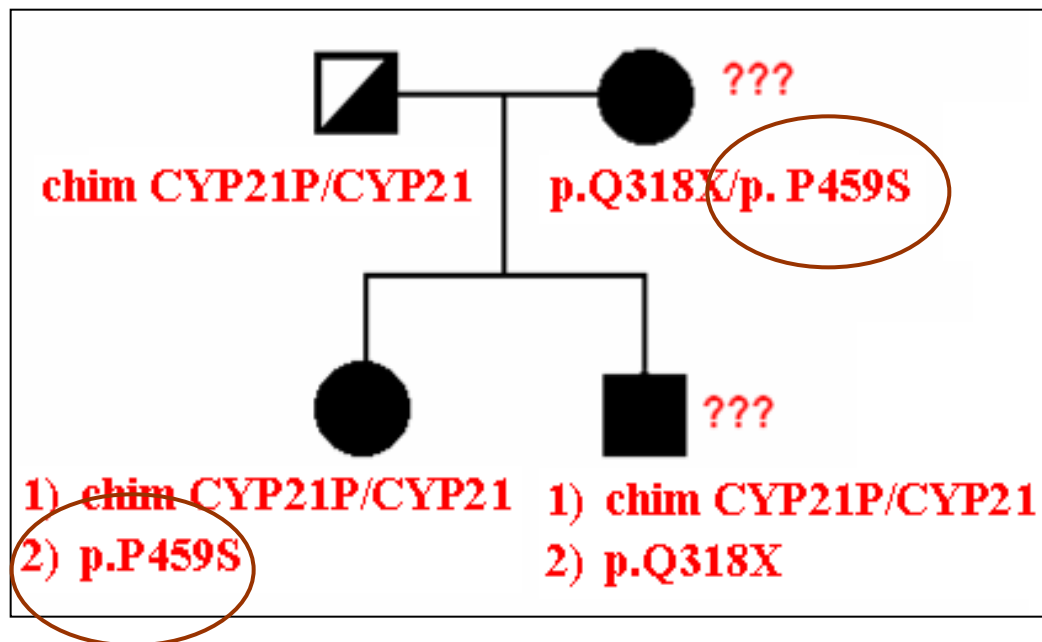


PROČ TRVÁ V RODINĚ NESHODA MEZI GENOTYPEM A FENOTYPEM ???

r. 2005 - zdokonalení DNA diagnostiky CAH:

1) sekvenování celé kódující sekvence

→ detekce bodové mutace p.P459S v HT stavu na maternální alele (10. exonu CYP21 genu)

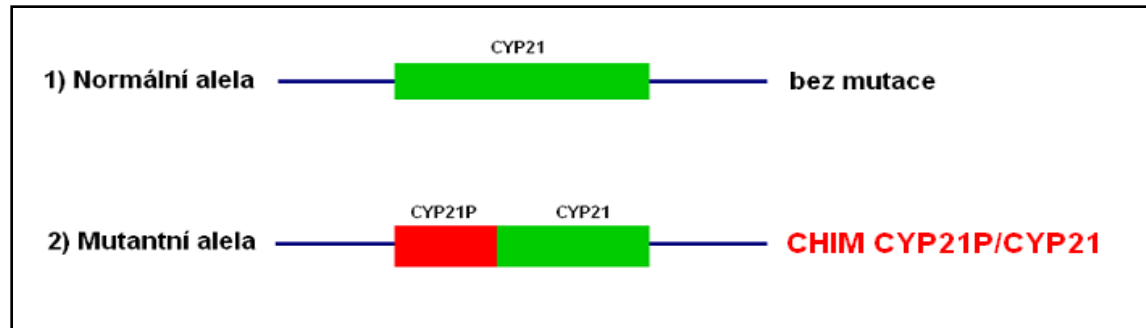


r. 2007 - zdokonalení DNA diagnostiky CAH:

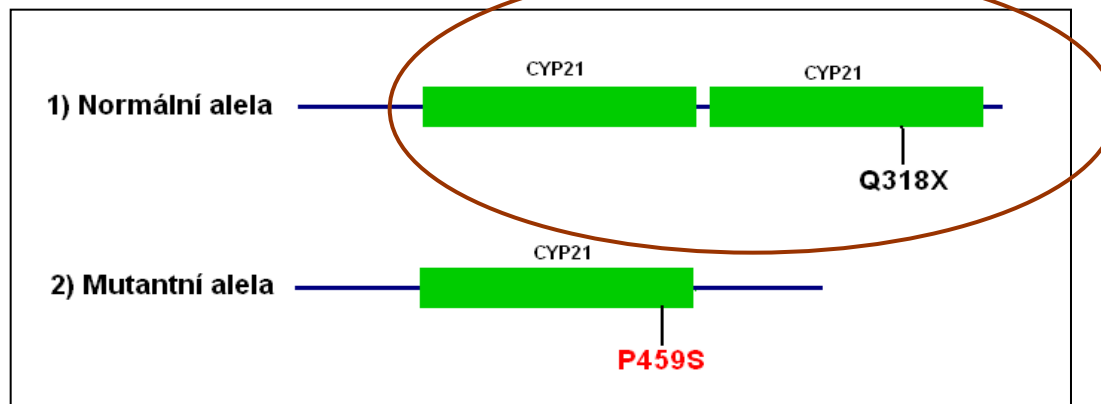
2) MLPA analýza přestaveb 6p21.3 oblasti

→ detekce duplikace CYP21 genu s p.Q318X v HT stavu na maternální alele

A/ Otec:



B/ Matka:



Analýza rodiny byla uzavřena s tímto konečným výsledkem:

