

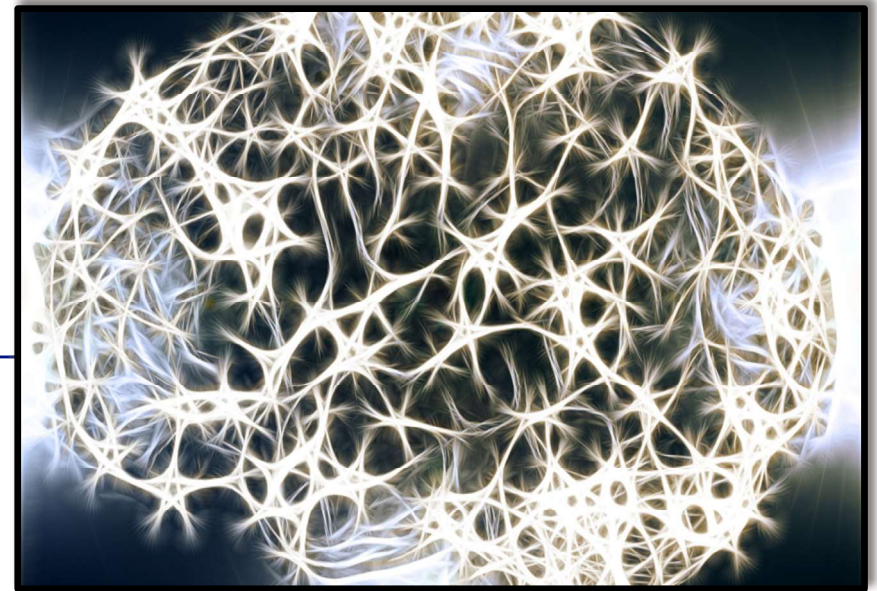


GENETYKA DLA NIE-GENETYKÓW

„OMIKA” NOWA DZIEDZINA DIAGNOSTYCZNA

Nie tylko choroby rzadkie.

„Choroby genetycznie uwarunkowane – edukacja i diagnostyka”
Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój – 2019 - 2021



Choroba Huntingtona

dr hab. Dorota Hoffman-Zacharska prof. IMiD

Zakład Genetyki Medycznej IMiD

„Choroby genetycznie uwarunkowane – edukacja i diagnostyka”
Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój – 2019 - 2021

Choroby neurogenetyczne (grupy wiekowe)

Neurologia dzieci i młodzieży:

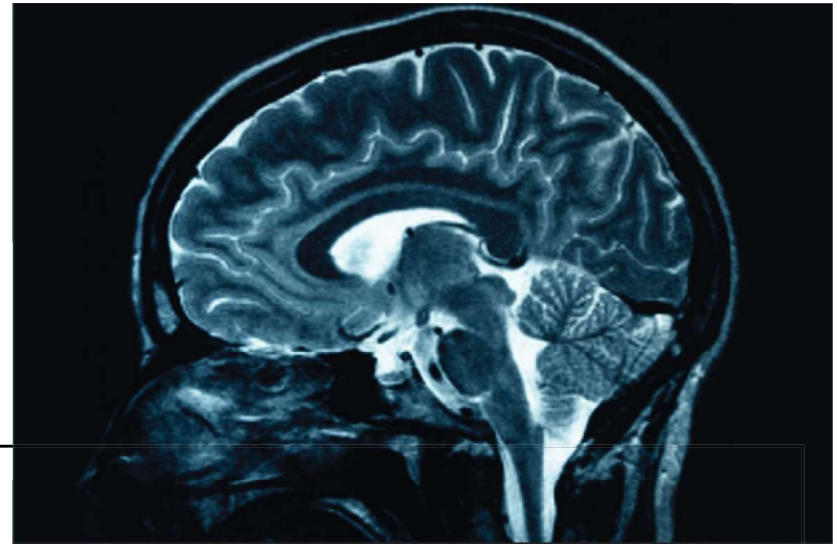
- Zaburzenia neurorozwojowe
- Postępujące dziecięce choroby neurodegeneracyjne
- Choroby neurometaboliczne
- Choroby nerwowomięśniowe
- Częste choroby neurologiczne wieku dziecięcego o podłożu poligenowym

Choroby o późnym wieku zachorowania

Neurologia dorosłych:

- Postępujące choroby neurodegeneracyjne wieku późnego
- Postępujące choroby nerwowomięśniowe
- Częste choroby neurologiczne o podłożu poligenowym



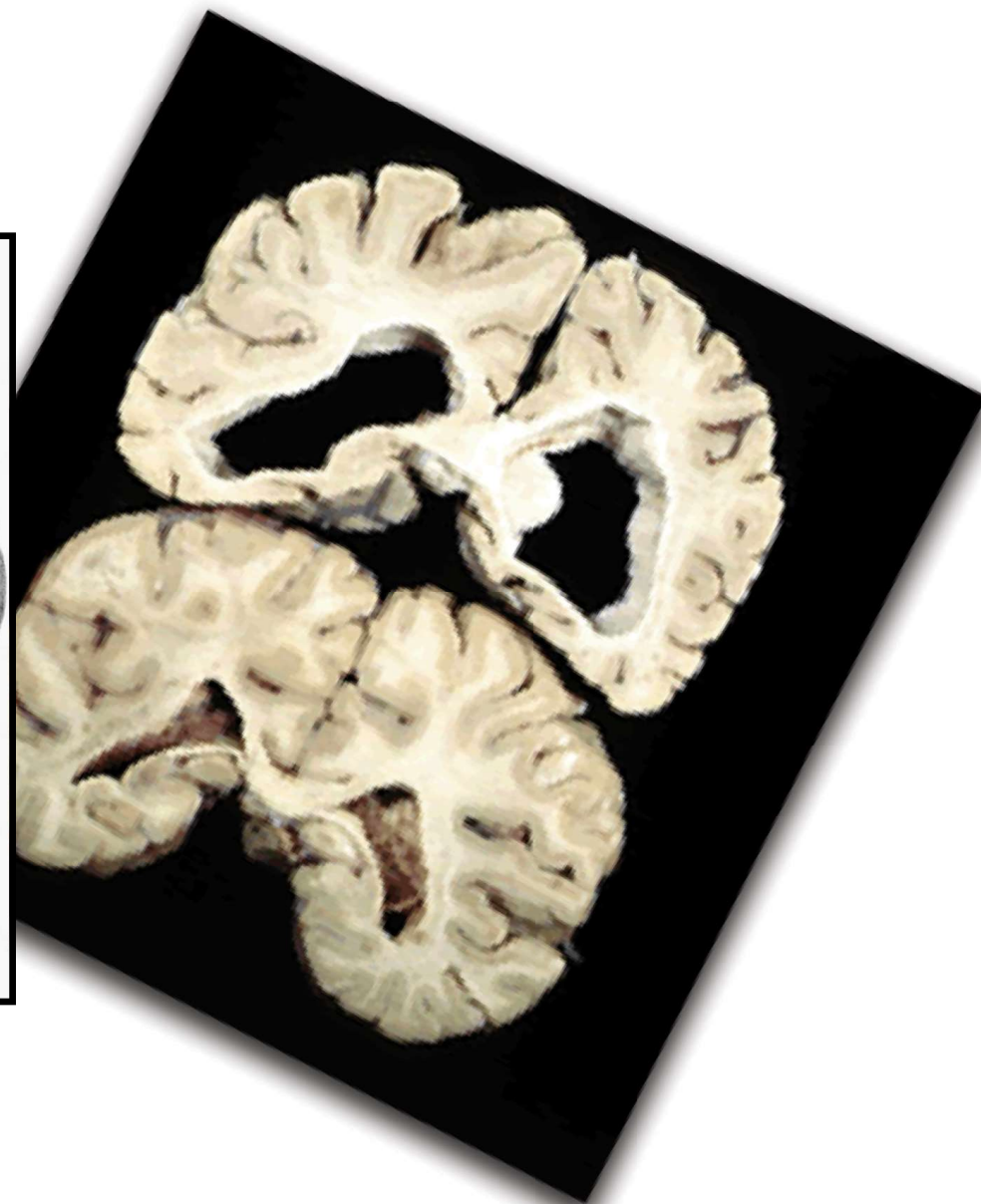
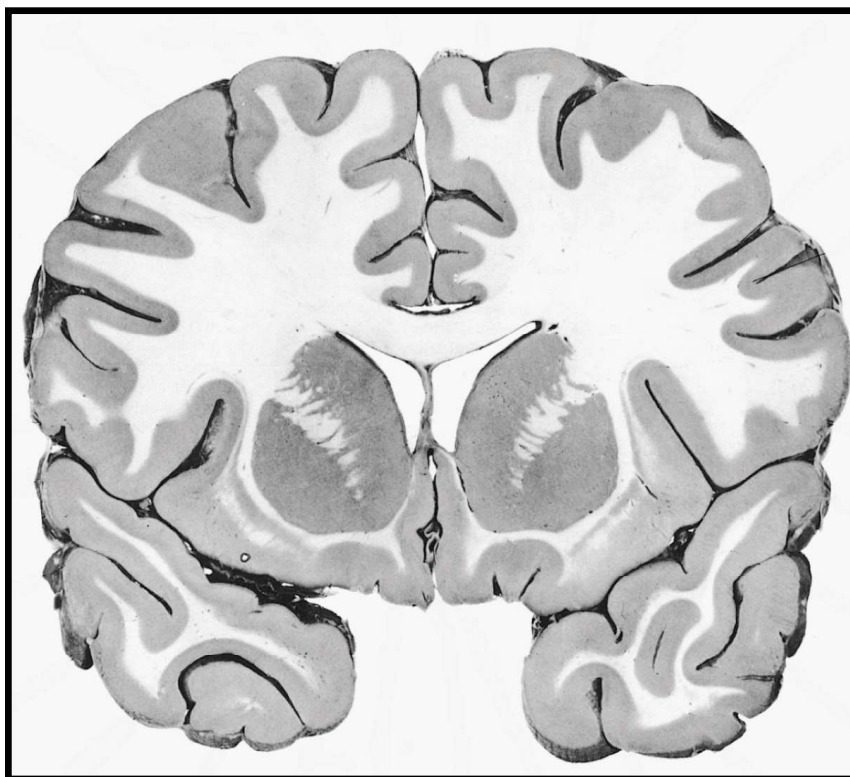


Choroby neurodegeneracyjne

Grupa chorób zarówno dziedzicznych jak i nabytych o postępującym charakterze, których podłoże stanowi utrata komórek nerwowych, czego efektem jest zanik struktur w ośrodkowym lub obwodowym układzie nerwowym

na poziomie „fenotypowym” postępująca dysfunkcją układu nerwowego, prowadząca do utraty samodzielności - inwalidztwa pacjenta.

Proces degeneracji neuronów jąder podstawy



(kontrola wykonania zaprogramowanych wcześniej
sekwencji ruchowych w czasie ruchu dowolnego
i wygaszanie sekwencji zbędnych)

Klasyfikacja chorób neurogenetycznych:

- **wynik zaburzenia prawidłowej ekspresji genu w neuroektodermie**
- **charakter neurologiczny jest powodowany pośrednio przez defekt genu nie ulegającego ekspresji w tkance nerwowej**

Choroba Huntingtona

wynik zaburzenia prawidłowej ekspresji genu w neuroektodermie
(AD; mutacja dynamiczna GoF/ gen HTT)

utrata neuronów GABA-ergicznych (hamujących)

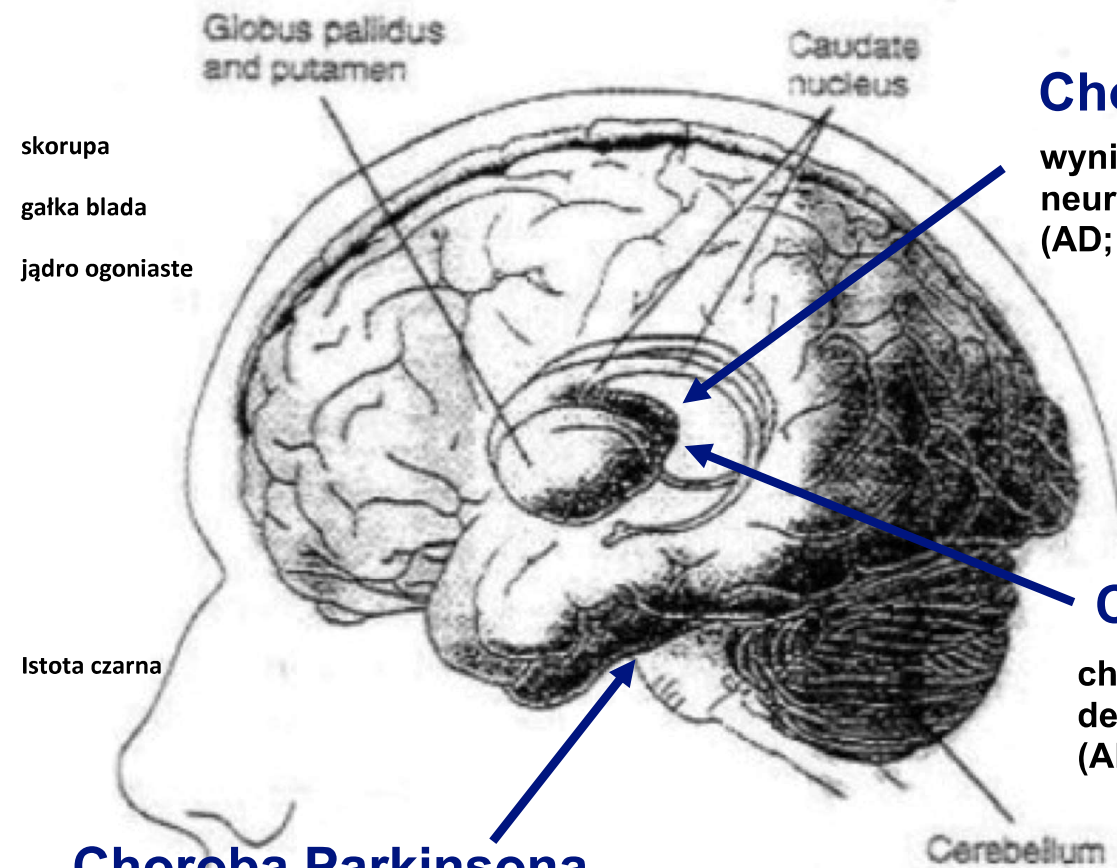
Choroba Wilsona

charakter neurologiczny jest powodowany pośrednio przez defekt genu nie ulegającego ekspresji w tkance nerwowej
(AR; mutacja typu LOF, gen *ATP7B* (transporter miedzi))

Choroba Parkinsona

wynik zaburzenia prawidłowej ekspresji genu w neuroektodermie
(AD/AR; idiopatyczna)

utrata neuronów dopaminergicznych (pobudzających)



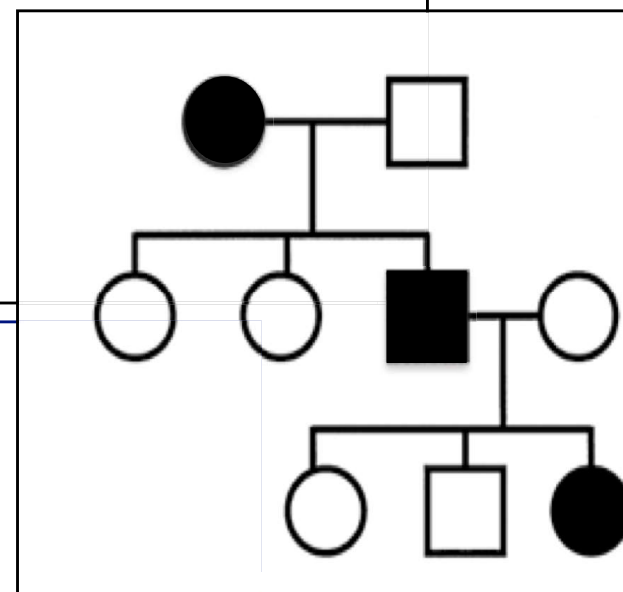
Choroba Huntingtona – Huntington Disease (HD) ***(Pląsawica Huntingtona – Huntington chorea)***

dziedziczna, postępująca choroba neurodegeneracyjna o późnym początku

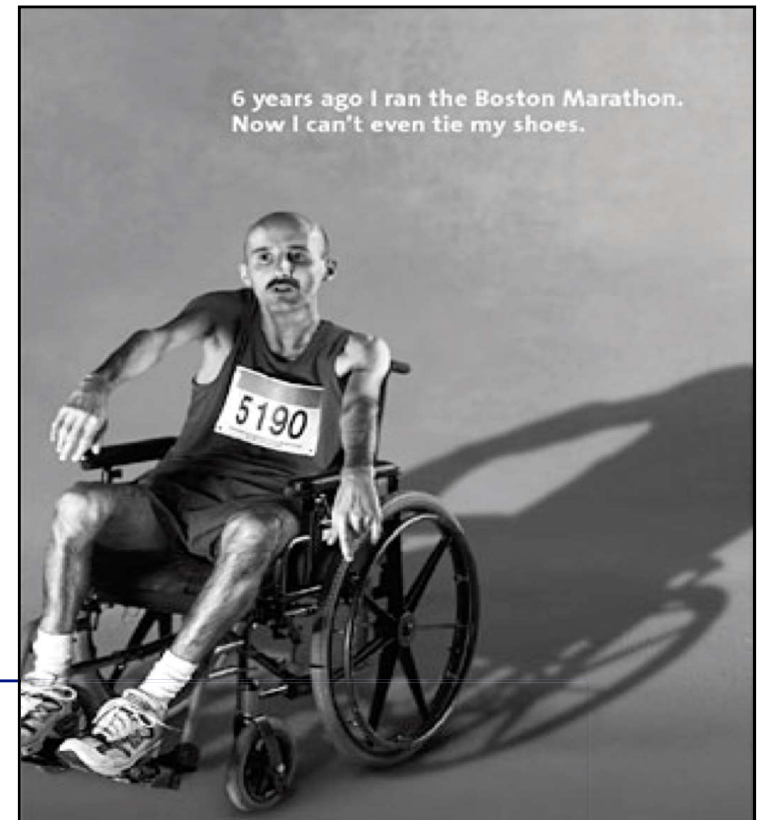
najczęstsza choroba genetyczna ośrodkowego układu nerwowego

dotyczy wszystkich populacji rasy kaukaskiej – częstość występowania określa się na 1 / 10 000 osób

wiek zachorowania większości pacjentów to 4 –5 dekada życia



Dziedziczenie autosomalne dominujące
Pełna penetracja mutacji
Penetracja zależna od wieku



zaliczana jest do grupy chorób neurologicznych określanych jako dziedziczne choroby z zaburzeniami ruchowymi (*movement disorders*)

główny objaw kliniczny dla tej grupy chorób to ataksja, dystonia, płasawica

objawy są wynikiem zaburzenia neurotransmisji w obrębie płatów czołowych, jąder podstawy, mózdzku i/lub dróg czuciowych/motorycznych

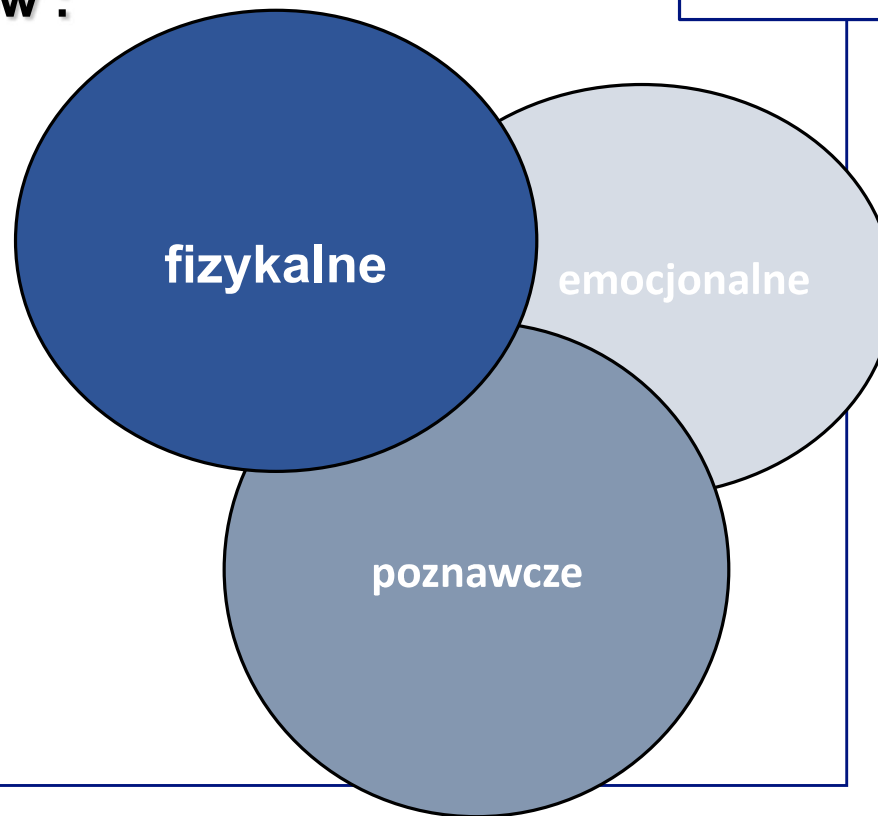
ataksja – bezład; niezdolność – upośledzenie zdolności dokładnego i sprawnego wykonywania ruchu

dystonia – zaburzenia napięcia mięśniowego

płasawica – chorea – ogólna nazwa zespołu objawów ruchowych układu pozapiramidowego, mimowolne skurcze mięśni lub grup mięśni (choroba św. Wita)

Triada objawów :

Choroba Huntingtona

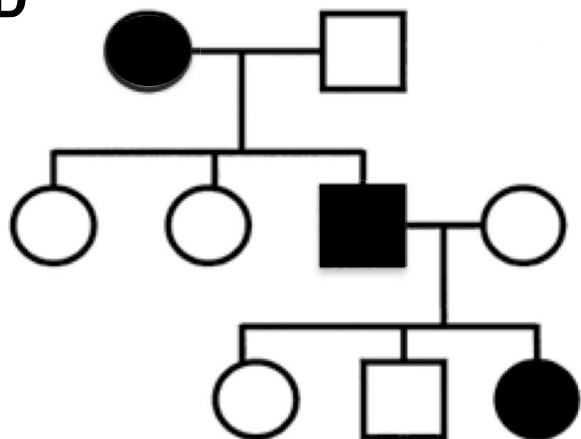


Badania na dużej grupie chorych (1200 osób) wykazały, że zazwyczaj pierwszym objawem są zaburzenia ruchowe (ruchy mimowolne), potem występują objawy emocjonalne a w następnej kolejności nieprawidłowości behawioralne.

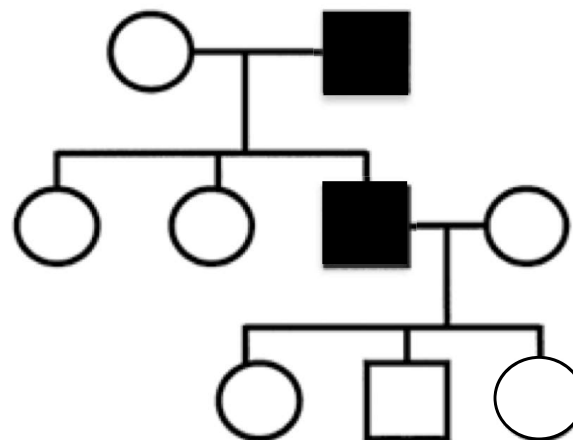
ale.....

Choroba też może zaczynać się zmianami osobowości pacjenta, które występują znacznie wcześniej niż objawy neurologiczne.

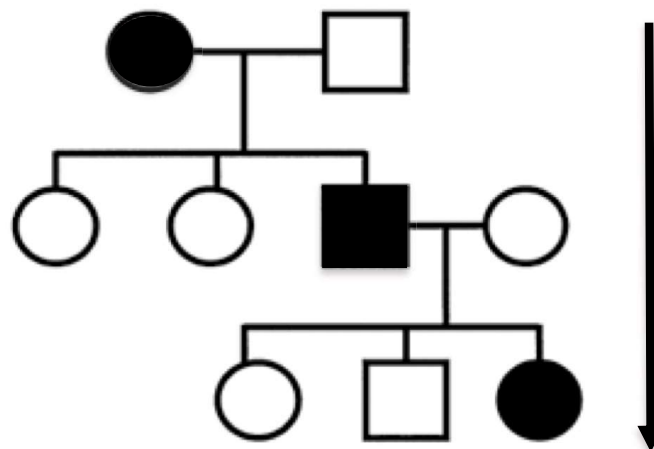
AD



AD – penetracja zależna od wieku



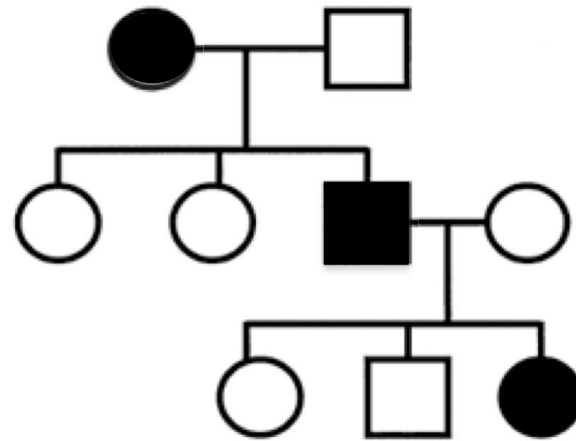
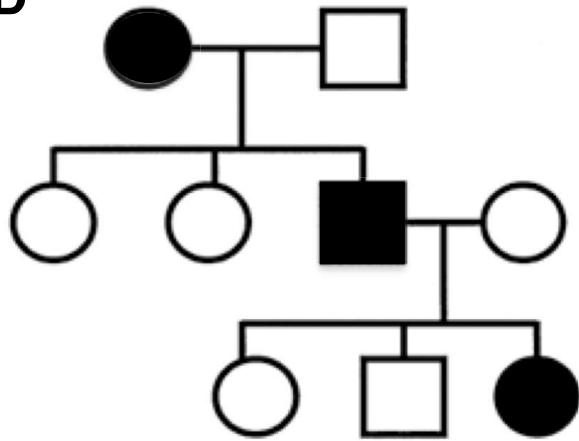
AD – antycypacja



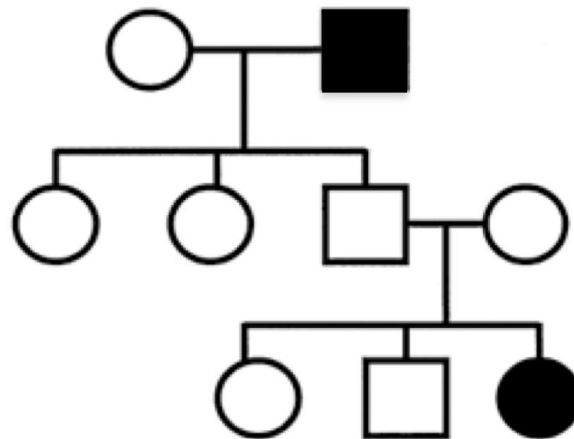
wcześniejszy wiek zachorowania
zaostwienie objawów klinicznych

AD – antycypacja

AD



wcześniejszy wiek zachorowania
zaostrenie objawów klinicznych



pozorne przeskoczenie pokoleń

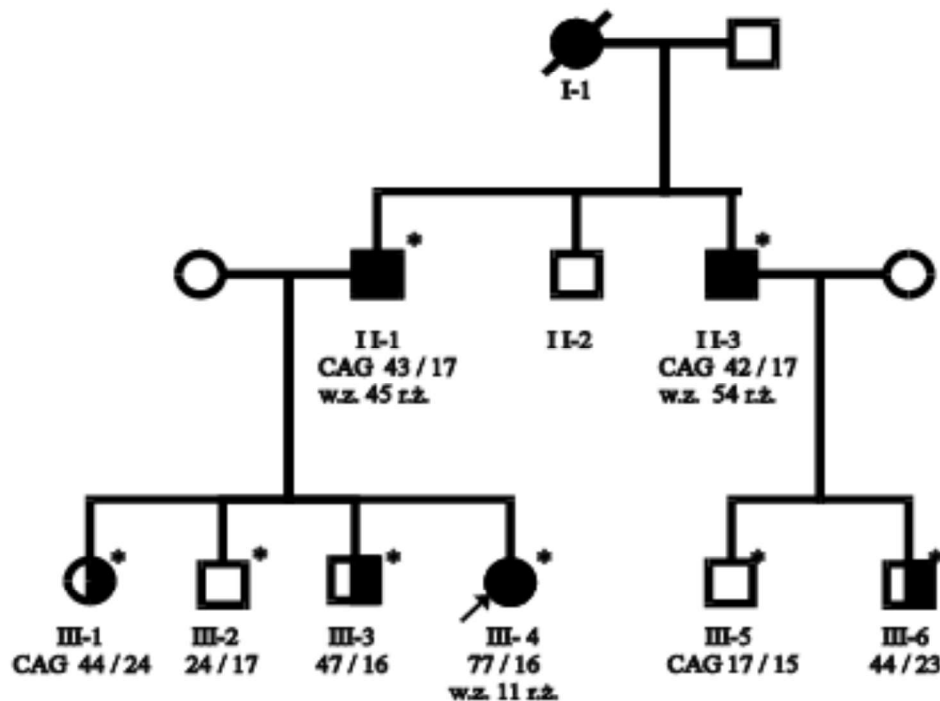
ANTYCYPACJA GENETYCZNA

zjawisko obserwowane w dziedziczeniu niektórych chorób genetycznie uwarunkowanych, charakteryzujące się wcześniejszym występowaniem objawów choroby oraz cięższym (ostrzejszym) jej przebiegiem w kolejnych pokoleniach.

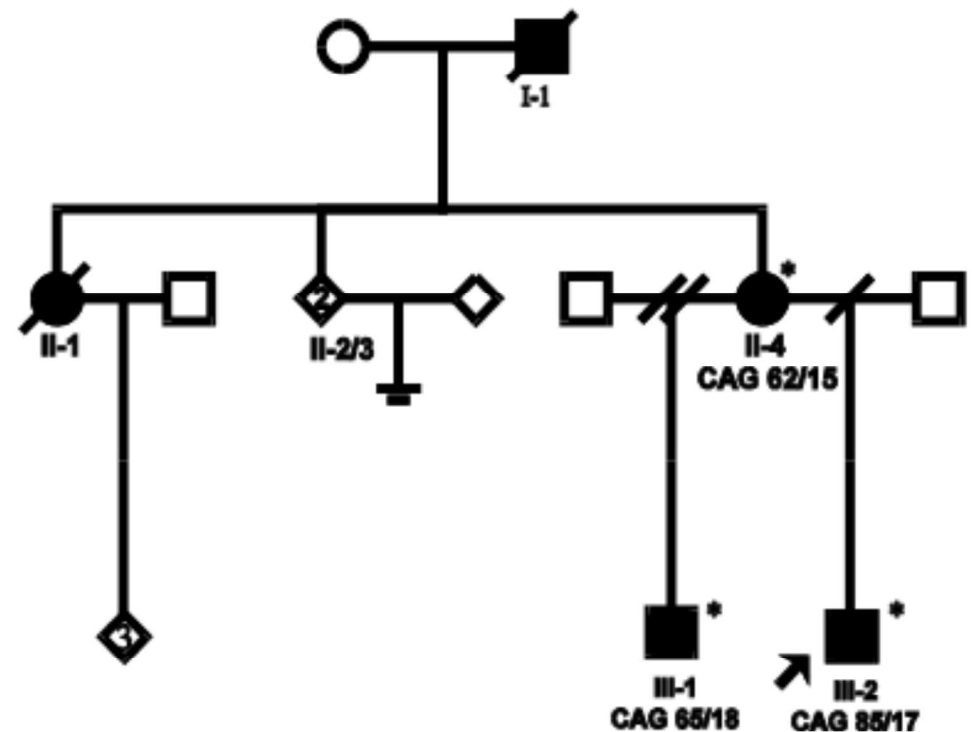
W przypadku HD prowadzi do wystąpienia dziecięcej/młodzieńczej postaci choroby.

Zazwyczaj w dziedziczeniu odojcowskim (wyższa niestabilność [CAG]_n w spermatogenezie)

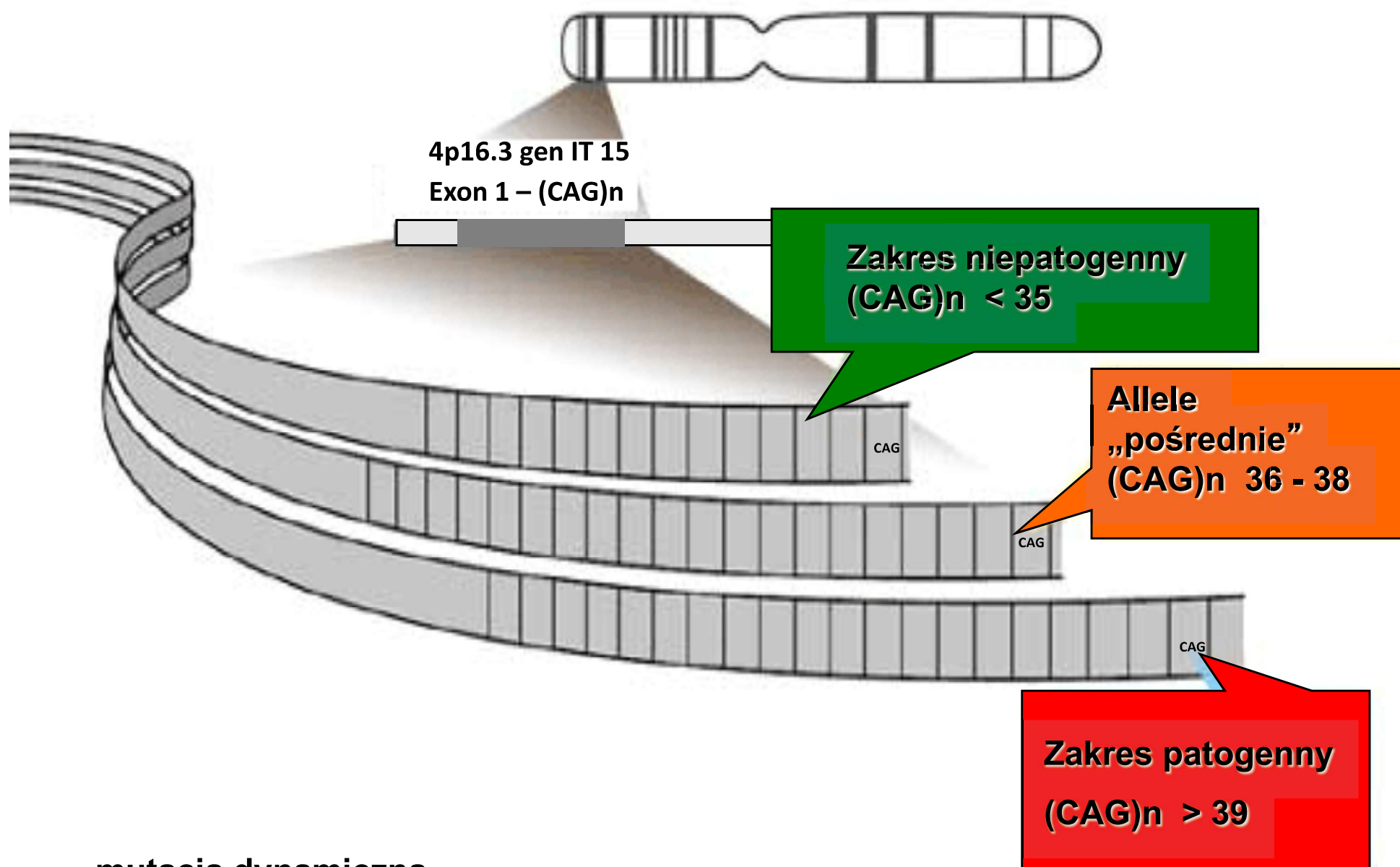
Antycypacja w dziedziczeniu odojcowskim



Antycypacja w dziedziczeniu odmatczym



Choroba Huntingtona



mutacja dynamiczna

Mutacje dynamiczne

zmiany w DNA, których mechanizm związany z *niestabilnością sekwencji mikrosatelitarnych*

odrębna klasa mutacji ze względu na „*niemendlowski charakter*”

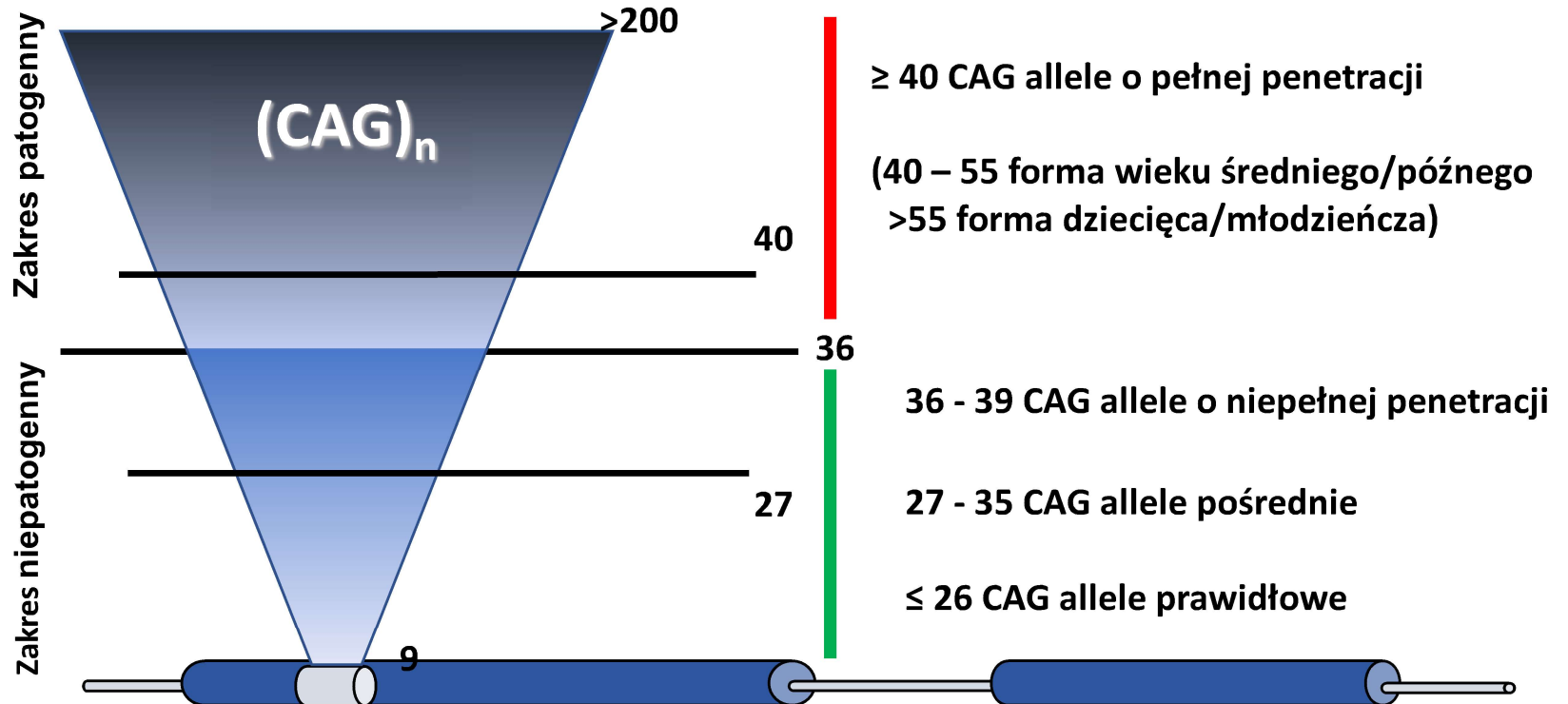
- ***różna „podatność” na zajście kolejnej mutacji w zależności od liczby powtórzeń mikrosatelitarnych***
- ***wzrastające ryzyko zajścia kolejnej mutacji w następujących pokoleniach***
- ***zmienność obrazu klinicznego w kolejnych pokoleniach – antycypacja***
- ***zmienność obrazu klinicznego w zależności od „polimorfizmu zakresu chorobotwórczego”***

4p16.3



p16.2
p16.1
p15.33
p15.31
p15.2
p15.1

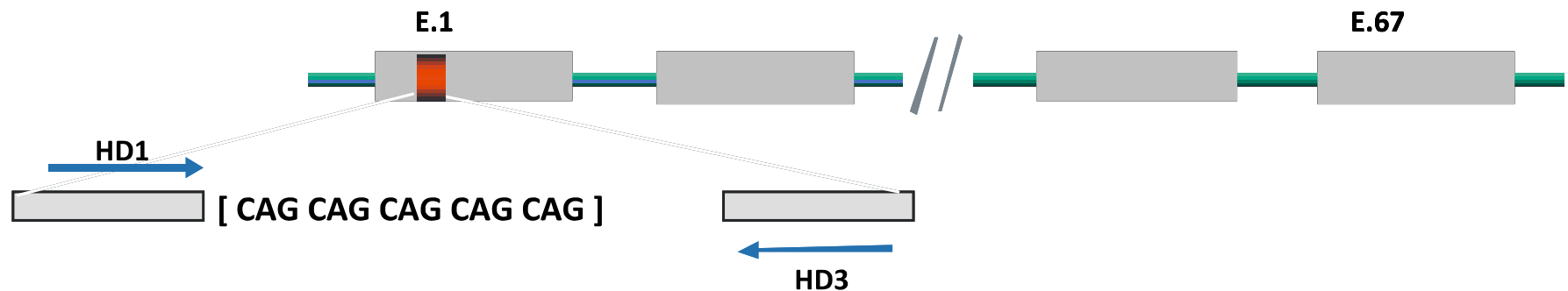
Choroba Huntingtona - podłoże molekularne



Zakresy powtórzeń (CAG)n i ich interpretacja

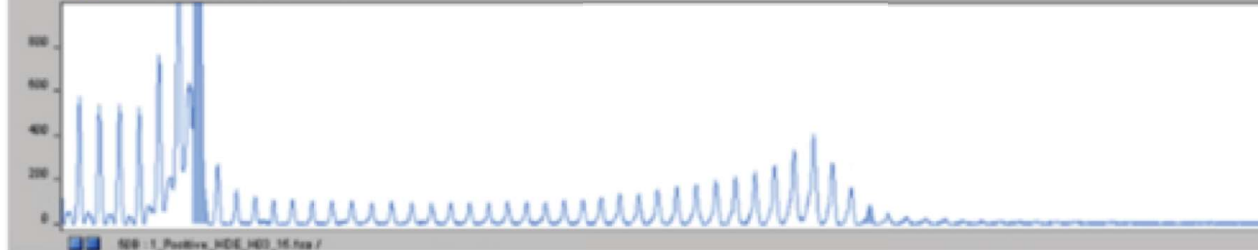
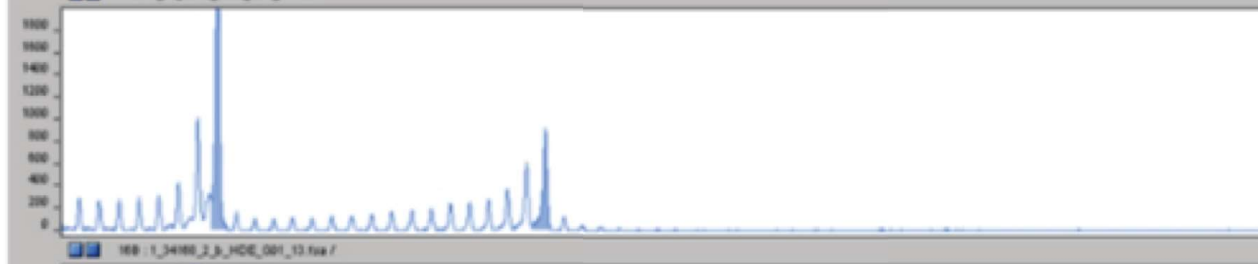
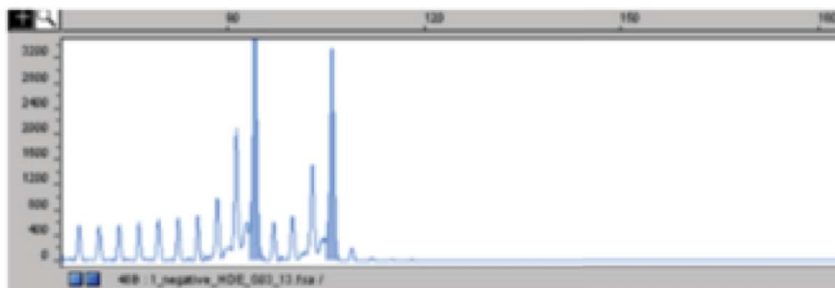
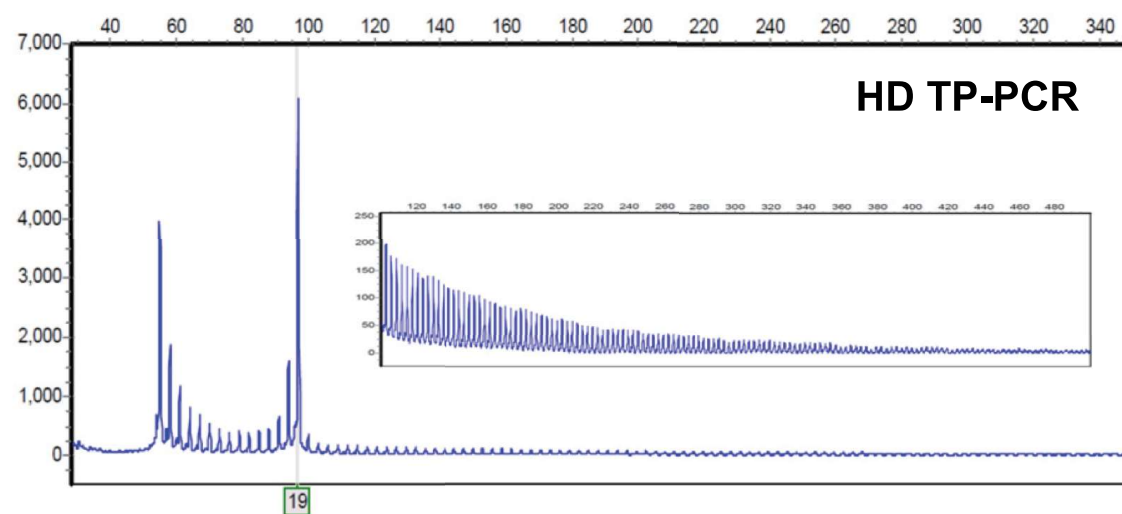
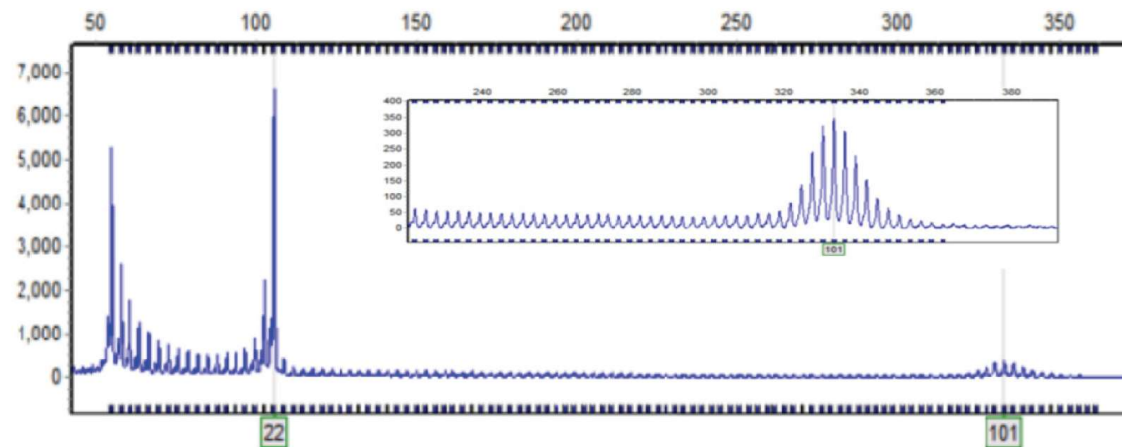
≤ 26	zakres niepatogenny	badany nie jest/ nie będzie chory (allele stabilne w dziedziczeniu – u potomstwa nie wystąpi HD)
27 – 35	zakres niepatogenny	badany nie jest/ nie będzie chory (allele w zakresie pośrednim - niestabilne w dziedziczeniu możliwa mutacja i HD u potomstwa)
36 – 39	niepełna penetracja	podwyższone ryzyko zachorowania badany może być chory (allele niestabilne w dziedziczeniu, ryzyko wystąpienia HD u potomstwa)
≥ 40	zakres patogenny	badany jest/będzie chory (50% ryzyko zachorowania u potomstwa możliwa niestabilność mutacji – różnica w liczbie CAG w pokoleniach - antycypacja)

1. Amplifikacja DNA metodą PCR obszaru 1 egzonu genu IT15 przy zastosowaniu starterów łączących się z sekwencjami przyległymi do rejonu powtórzeń [CAG]_n.

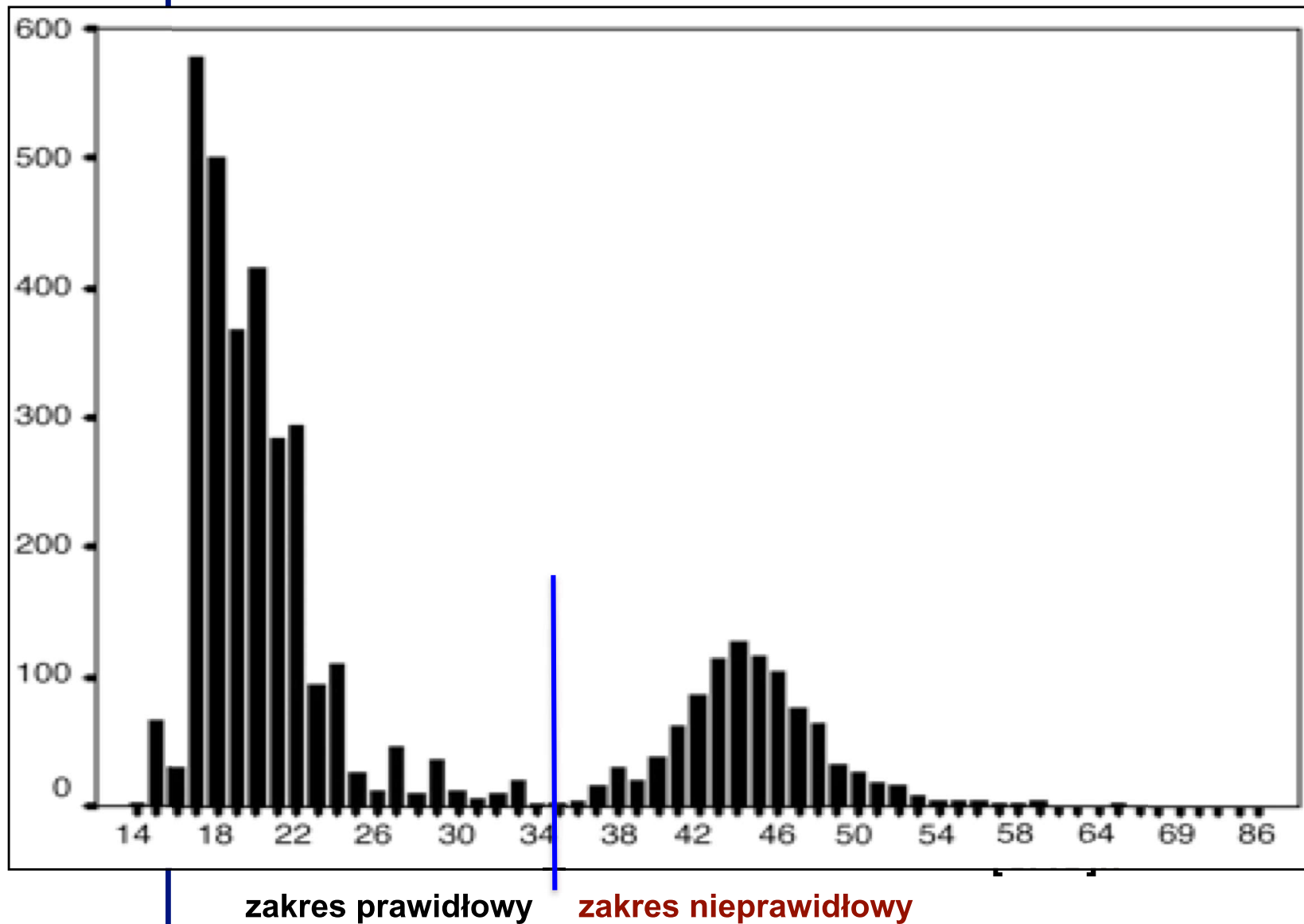


2. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR (Ryc.nr 8), określenie wielkości produktów reakcji PCR w parach zasad (pz)
3. Ustalenie liczby powtórzeń (CAG)_n wg wzoru

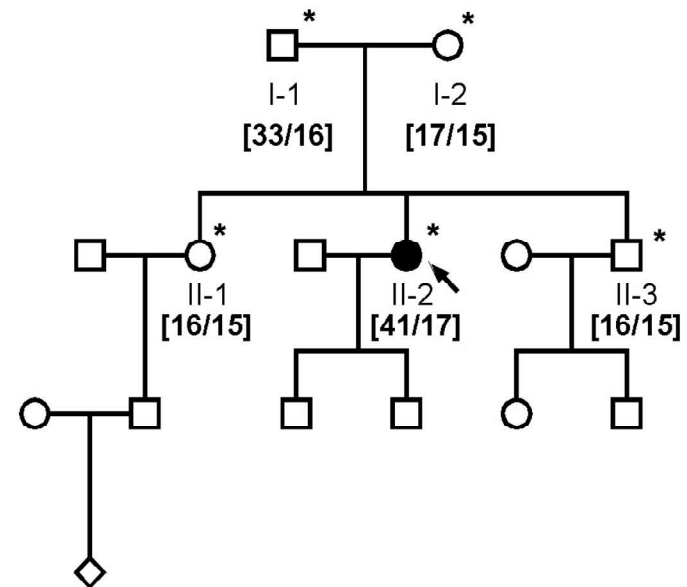
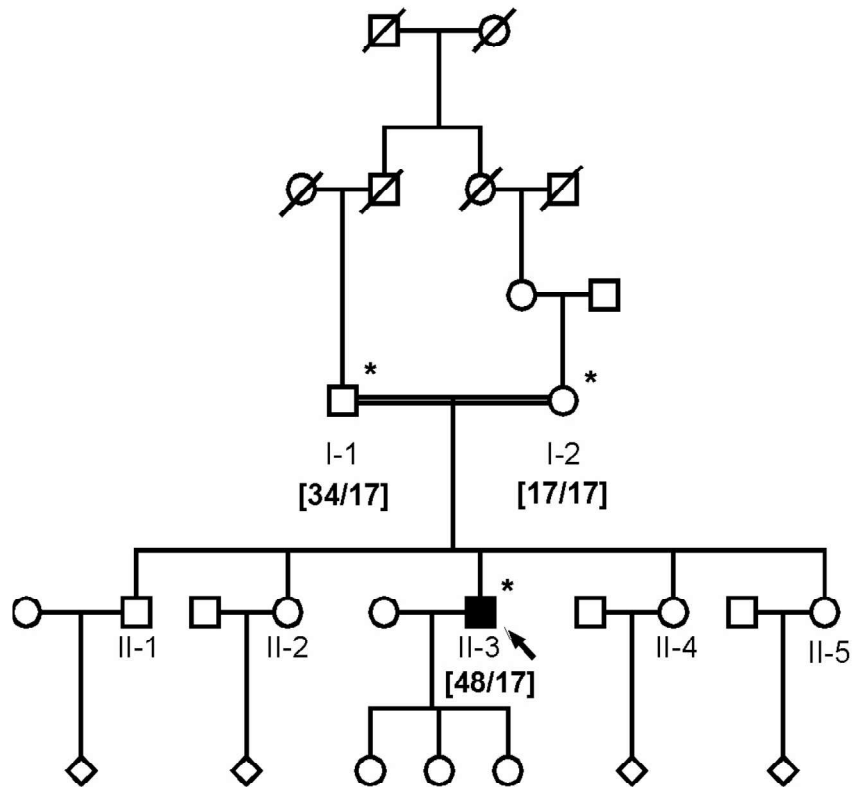
$$n = \frac{\text{wielkość produktów PCR (pz)} - \text{dł. starterów(47 pz)}}{3}$$

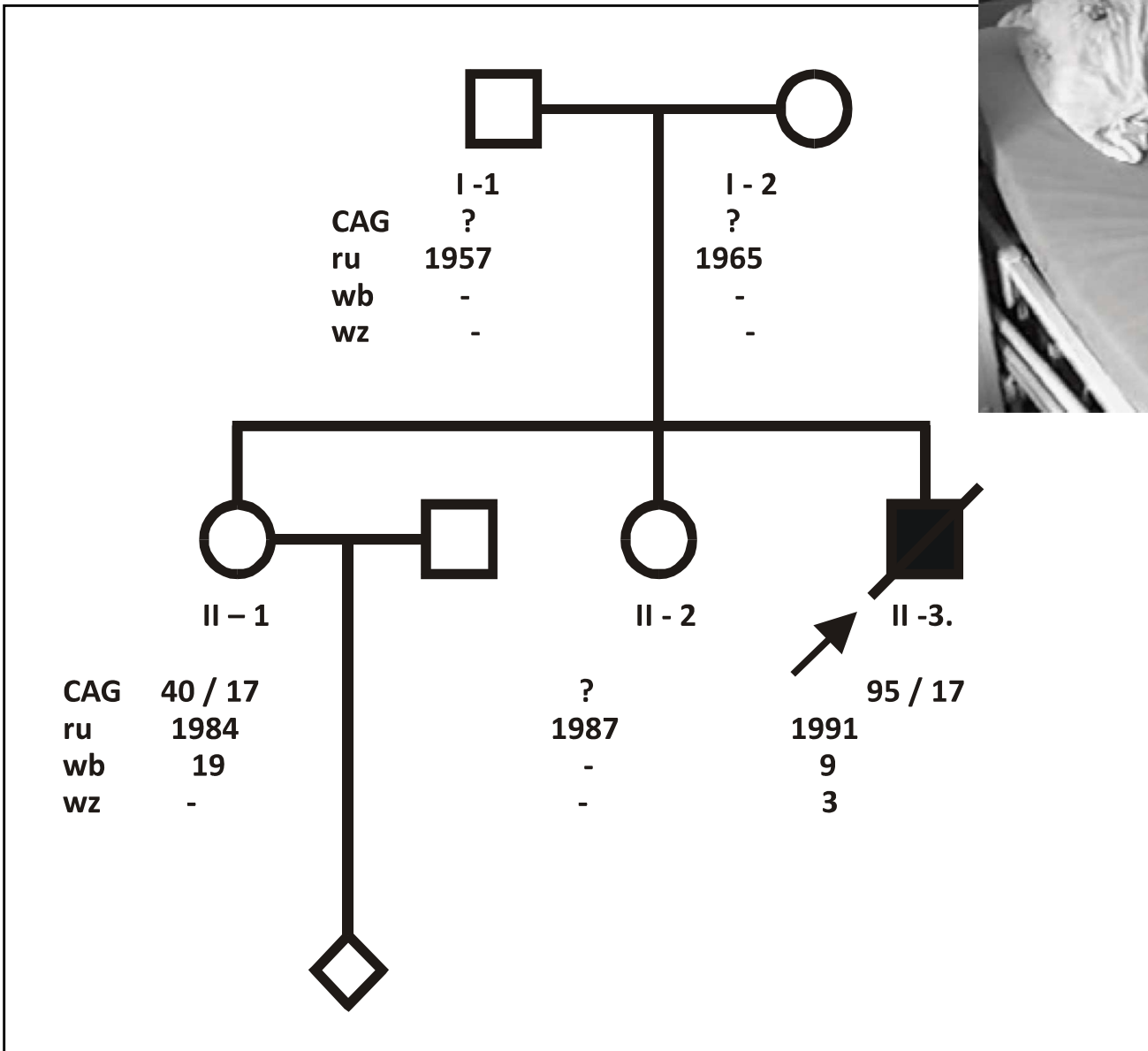


Rozkład liczby powtórzeń CAG w genie *HTT*



Mutacije de novo





Dziecięca postać HD

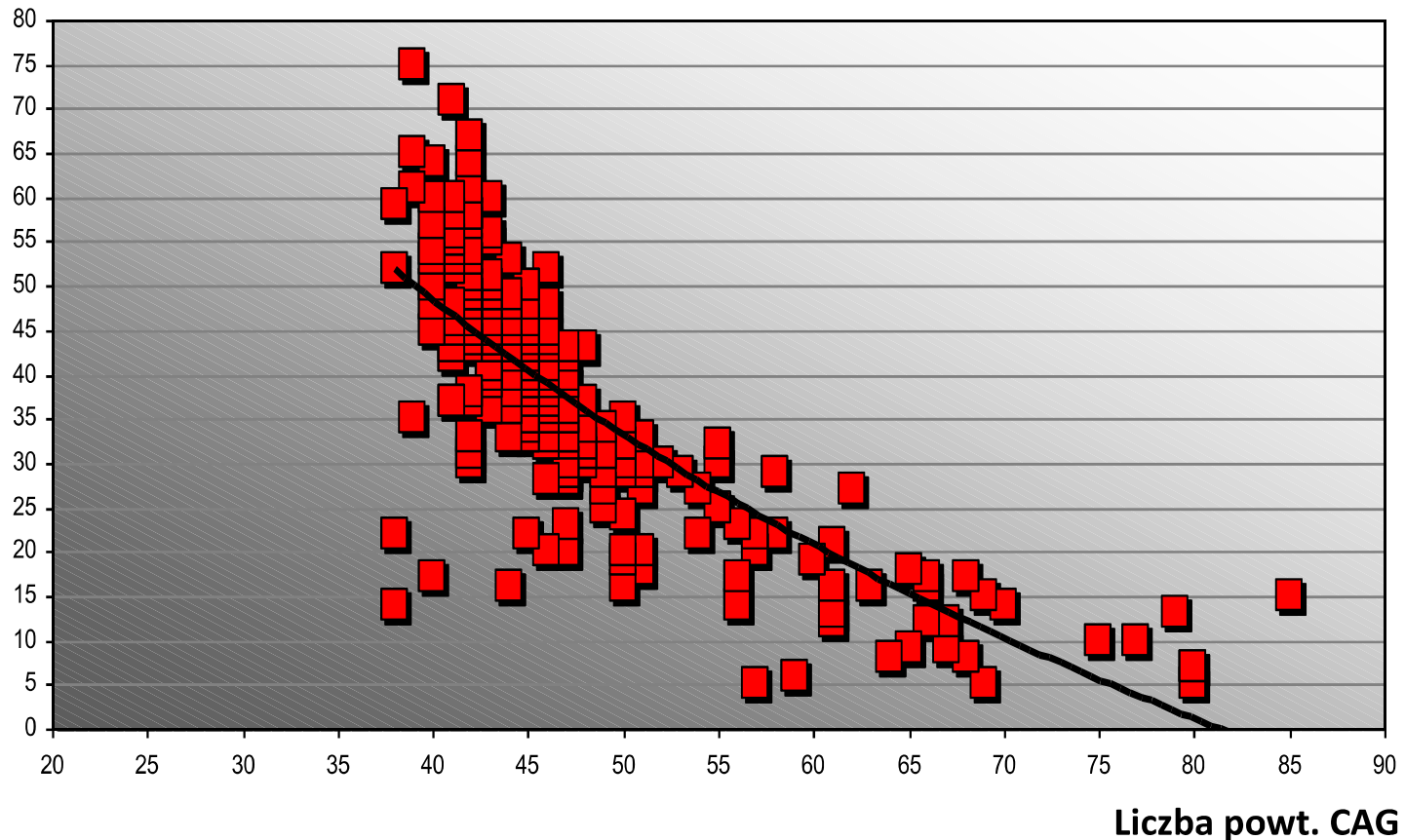
Choroba Huntingtona

- forma wieku późnego
- forma wieku średniego
- forma młodzieńcza
- wiek zach. > 50
- wiek zach. $30 - 50$ (90%)
- wiek zach. < 20

wydłużanie CAG

Wiek zachorowania

■ $r = -0.77$ ($p < 0.000001$)



Korelacja liczby powtórzeń CAG z wiekiem zachorowania, przebiegiem choroby

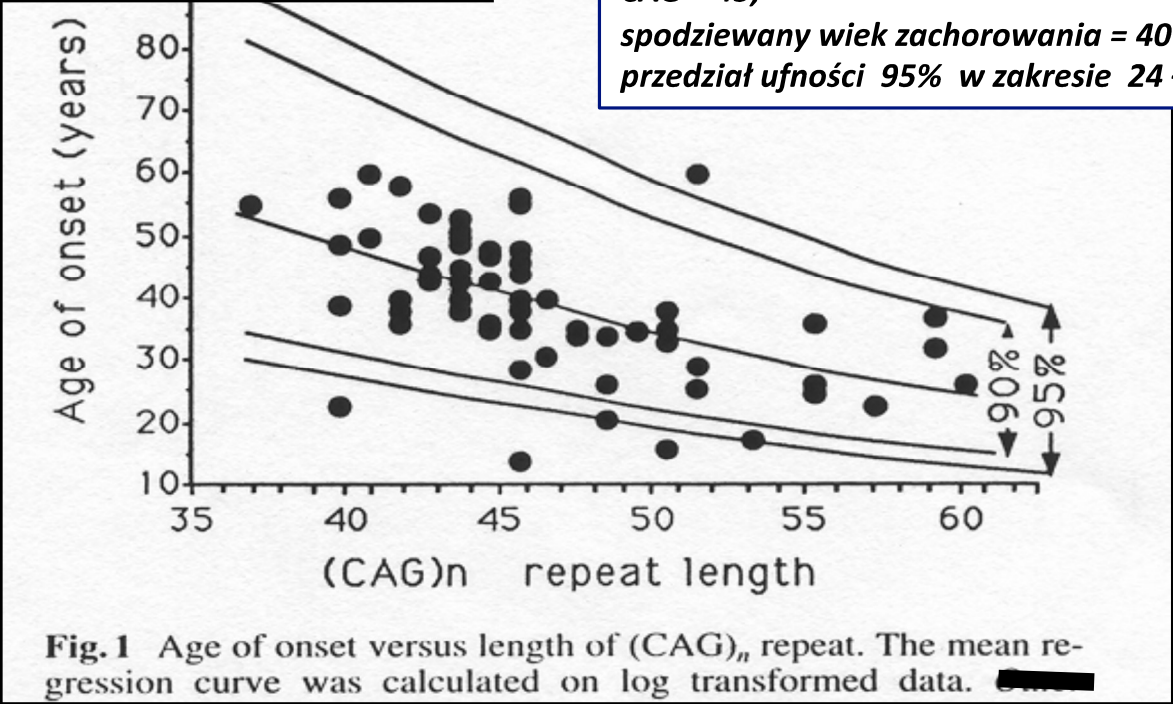
Hum Genet (1995) 95: 231–232

© Springer-Verlag 1995

SHORT COMMUNICATION

G. Lucotte · J.C. Turpin · O. Riess · J.T. Epplen
I. Siedlaczek · F. Loirat · S. Hazout

Confidence intervals for predicted age of onset, given the size of (CAG)_n repeat, in Huntington's disease



ustalenie w badaniu przedobjawowym liczby powtórzeń w zakresie patologicznym nie może stanowić podstawy w prognozowaniu wieku wystąpienia objawów choroby u badanego ani jej obrazu klinicznego i przebiegu (dotyczy to również członków tej samej rodziny)

Badania molekularne wykonywane w rodzinach obciążonych HD

Test bezpośredni określenie liczby powtórzeń CAG

Badanie diagnostyczne

wykonywane u osób z klinicznym rozpoznaniem lub podejrzeniem HD

(potwierdzenie lub wykluczenie diagnozy klinicznej)

Badanie przedobjawowe

wykonywane tylko u osób pełnoletnich pochodzących z rodzin obciążonych HD

Badania prenatalne

analiza DNA płodu, jeżeli u jednego z rodziców stwierdzono obecność allelu chorobotwórczego

Badanie preimplantacyjne

PREDICTIVE TESTING

Osoby bez objawów choroby
(obciążający wywiad rodzinny)

Predispositional testing - Badania predyspozycji

Presymptomatic testing - Badania przedobjawowe

Badania przedobjawowe

Mutacje powodujące chorobę

Obecność mutacji

Brak mutacji

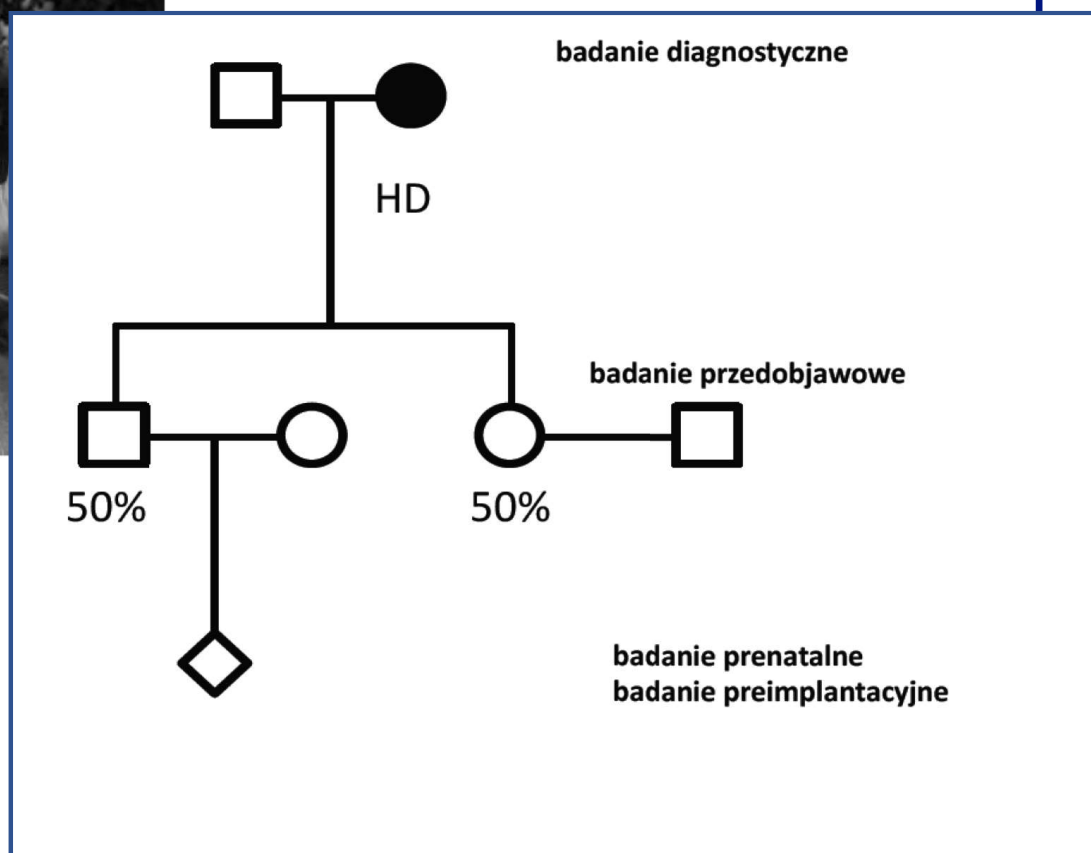
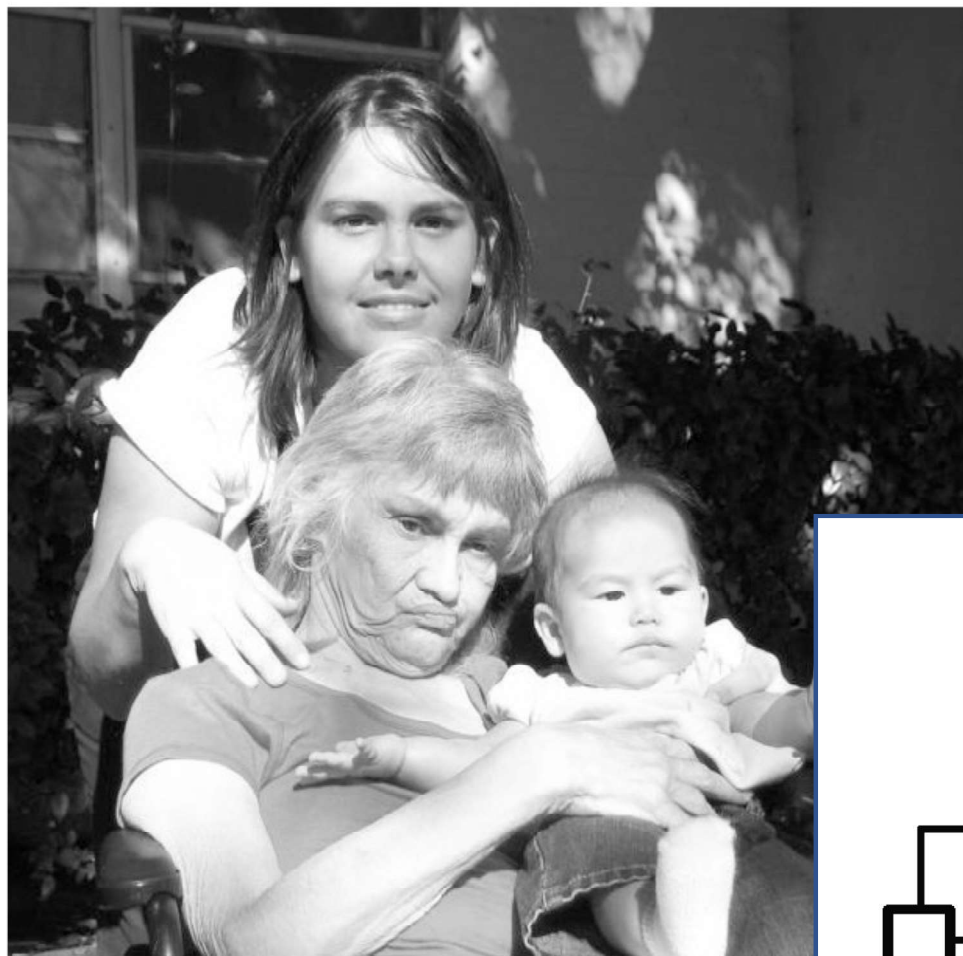


Badany zachoruje
w którymś momencie



Badany nie zachoruje





Choroba Huntingtona

- badania przedobjawowe



Special Feature

Recommendations for the predictive genetic test in Huntington's disease

MacLeod R, Tibben A, Frontali M, Evers-Kiebooms G, Jones A, Martinez-Descales A, Roos RA and Editorial Committee and Working Group 'Genetic Testing Counselling' of the European Huntington Disease Network. Recommendations for the predictive genetic test in Huntington's disease
Clin Genet 2012. © John Wiley & Sons A/S, 2012

**R MacLeod^{a,t,†}, A Tibben^{b,t,†},
M Frontali^{c,†},
G Evers-Kiebooms^{d,†},
A Jones^{e,†},
A Martinez-Descales^{f,t,†}, RA
Roos^{g,t,†} and Editorial
Committee and Working Group
'Genetic Testing Counselling'
of the European Huntington
Disease Network^{†,†}**

^aGenetic Medicine, Manchester Academic Health Science Centre, Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust, Manchester, UK, ^bCentre for Human and Clinical Genetics, Leiden University Medical Centre, Leiden, The Netherlands, ^cIstituto di Farmacologia Traslazionale del CNR, Rome, Italy, ^dDepartment of Human Genetics, University of Leuven, Leuven, Belgium, ^eInternational Huntington Association, c/o Huntington's WA (inc) The Niche, 11 Aberdare Road, Nedlands, 6009, Western Australia, Australia, ^fNeurological Department, Fundación Jiménez Díaz Avda. Reyes Católicos, 2 28040, Madrid, Spain, and ^gDepartment of Neurology Leiden, University Medical Centre, PO Box 9600, 2300RC, Leiden, The Netherlands

[†]EHDN WG Genetic Testing and Counselling: Emilia Bijlsma, Ellen Blinkenberg, Yvonne Bombard, Pascal Borry, David Craufurd, Mary Davis, Christine de Die-Smulders, Claudia Downing, Alexandra Dürr, Maria Garcia Barcina, Ruth Glew, Arvid Heiberg, Frances Heydon, Dorota Hoffman-Zacharski, Ulrika Hösterey Ugander, Maria José Trujillo Tiebas, Wioletta Krysa, Inge Liebaers, Christiane Lohkamp, Paola Mandich, Caterina Mariotti, Bea De Schepper, Emilio di Maria, Andrea Nemeth, Oliver Quarrell, Pascale Ribai, Alicia Semaka, Sara Seneca, Jorge Sequeiros, Ferdinando Squitieri, Anna Sulok, Lucienne van der Meer, Christine Verellen-Dumoulin, Guido de Wert.

HD EUROPEAN HUNTINGTON'S DISEASE NETWORK

Rekomendacje dla testów przedobjawowych w HD (wybrane zagadnienia)

- **wszystkie osoby chcące wykonać test przedobjawowy powinny mieć taką możliwość (50%; 25%)**
- **wykonanie testu powinno być poprzedzone spotkaniem wyjaśniającym wszelkie aspekty związane z chorobą i samym badaniem (konsekwencje dla badanego i jego rodziny) tak aby poddający się badaniu mógł podjąć w pełni świadomą decyzję zainteresowany powinien się zgłosić na badanie z własnej inicjatywy minimum 1 miesiąc od pierwszego spotkania informacyjnego (deklaracja świadomej zgody)**
- **decyzja musi być indywidualną i samodzielną decyzją zainteresowanego**
testy przedobjawowe dostępne są tylko dla osób pełnoletnich (> 18 r.ż.)
nie należy brać pod uwagę opinii innych, także członków rodziny (nie bada się dzieci na życzenie rodziców) test przedobjawowy nie może być elementem rutynowego badania krwi
- **poddającemu się badaniu na wszystkich etapach powinna towarzyszyć osoba zaufana, szczególnie dotyczy to momentu odbioru wyniku (zawsze osobiście)**
- **poradnictwem i przeprowadzaniem testów przedobjawowych powinny się zajmować specjalnie przeszkolone jednostki znające specyfikę choroby**
- **po odbiorze wyniku (niezależnie od jego treści) poddający się badaniu powinni zostać objęci opieką poradni (inicjatywa poradni tydzień i miesiąc po odebraniu wyniku)**
- **osoba poddająca się badaniu powinna zostać poinformowana o istnieniu i możliwości kontaktu ze stowarzyszeniem pacjentów i rodzin z HD**

Allele pośrednie

REC 5.2.4

The counsellor must explain that, although the genetic mutation has been found, at the present time only limited useful information can be given about age at onset or about the kind of symptoms, their severity, or the rate of progression.

COM 5.2.4

The correlation between CAG repeat size and mean age of onset could be discussed, but it is important to point out the wide confidence intervals. A specific repeat size is usually associated with a wide range of age at onset; current mathematical models of age of onset have not been validated for clinical practice.

Reasons for the changes 5.2.4

- (1) Prediction models of age at onset based on (CAG)n size have evolved in the last few years (18–21).
- (2) Although an initial validation of these models has been reported, they might not be free from biases (21).
- (3) These models do not include factors, beyond CAG repeat size, that have been shown to influence age at onset, such as genetic and environmental modifiers (22–25).
- (4) Although these models have an unquestionable value in research, it appears premature to use them in genetic counselling.

REC 5.2.5

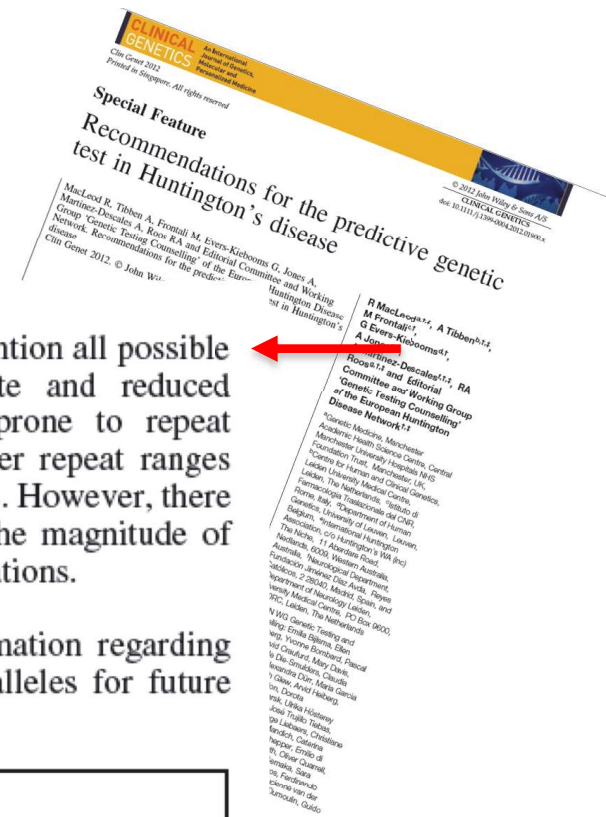
Pre-test genetic counselling should mention all possible test outcomes, including intermediate and reduced penetrance results, which may be prone to repeat instability and may expand into higher repeat ranges upon transmission to future generations. However, there is insufficient information regarding the magnitude of the risk of expansion for future generations.

COM 5.2.5

There is at present insufficient information regarding clinical implications of intermediate alleles for future generations.

Reasons for the changes 5.2.5

- (1) Intermediate alleles (IA) and reduced penetrance alleles are known to be prone to expansion upon intergenerational transmission with a so far unknown probability (26–29).
- (2) The frequency of IA in the general population is relatively high (estimated 2–6%), and its possible implications should be mentioned in pre-test counselling (28–32).



7.2] Preimplantation genetic diagnosis

COM 7.2

Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) in association with IVF is a reproductive option for people at risk of passing on a genetic condition. The different types of PGD for HD and the different situations where PGD may be an option will be outlined in the following specific recommendations regarding PGD for HD.

REC. 7.2.1

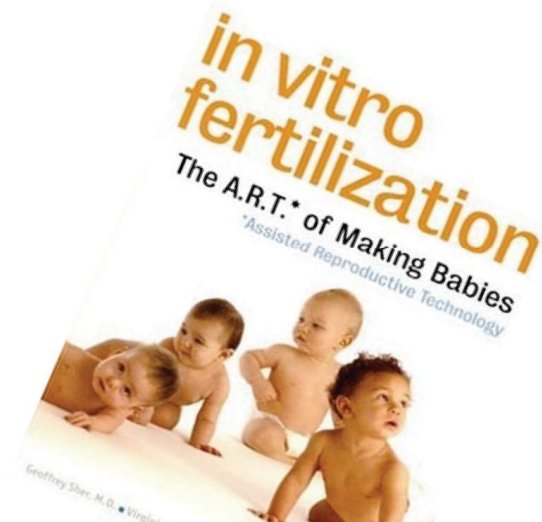
It is recommended to offer PGD to an asymptomatic carrier of the HD gene expansion (36 or more repeats) and his/her partner if there is access to this technology in the country where genetic counselling is being provided.

COM 7.2.1

In general, PGD is offered to people at risk of passing on a serious genetic condition. The risk of expansion of an intermediate allele to a reduced penetrant or full penetrant allele is not exactly known, but is low. Participants with an intermediate allele requesting PGD should be offered genetic counselling.

REC. 7.2.5

Only embryos with two normal HD alleles should be transferred.



REC. 7.2.4

Couples where one partner is already symptomatic should have access to counselling for PGD. Psychosocial counselling on the impact upon a child of growing up with a parent with HD in general and exploration of the potential effects in the specific case is an important aspect of the PGD procedure.

COM 7.2.4

Being symptomatic is not a priori an exclusion criterion. Counselling should be given to the couple, taking into account the impact upon the future child's development and the learning skills of the partner who is not symptomatic. This is particularly important in this regard. A case-by-case approach does optimal justice to couples where one partner faces the personal burden of HD in her/himself, while being aware of the ramifications for future children.

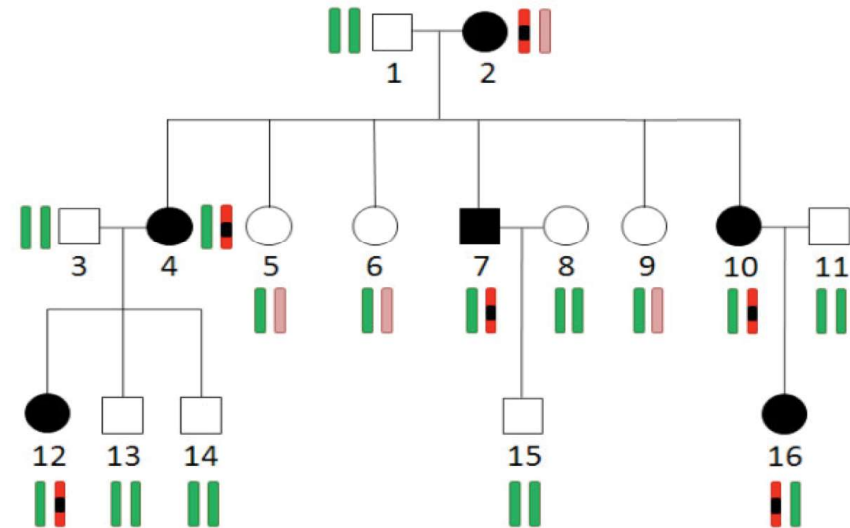
Historia diagnostyki molekularnej choroby Huntingtona

1983

Lokalizacja rejonu odpowiedzialnego
za chorobę Huntingtona na chromosomie 4.

od roku 1986 **TEST POŚREDNI**
analiza sprzężeń – test predykcyjny

Analiza sprzężeń – badanie rodzinne



ryzyko zachorowania 90% lub więcej, oraz 10% lub mniej

1993

Identyfikacja genu chorobotwórczego
Identyfikacja mutacji chorobotwórczej

od roku 1995 –**TEST BEZPOŚREDNI**
analiza mutacji - test diagnostyczny
test predyktywny

Analiza bezpośrednie – badanie indywidualne

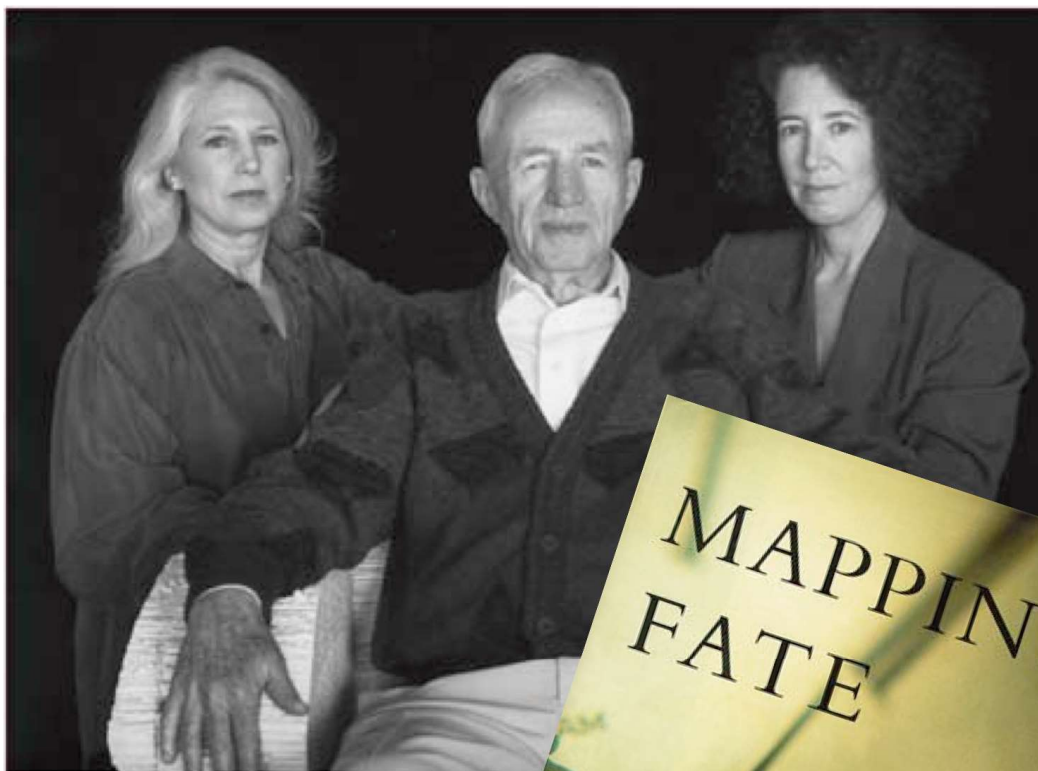


praktycznie 100% wiarygodności

Hereditary Disease Foundation (HDF)

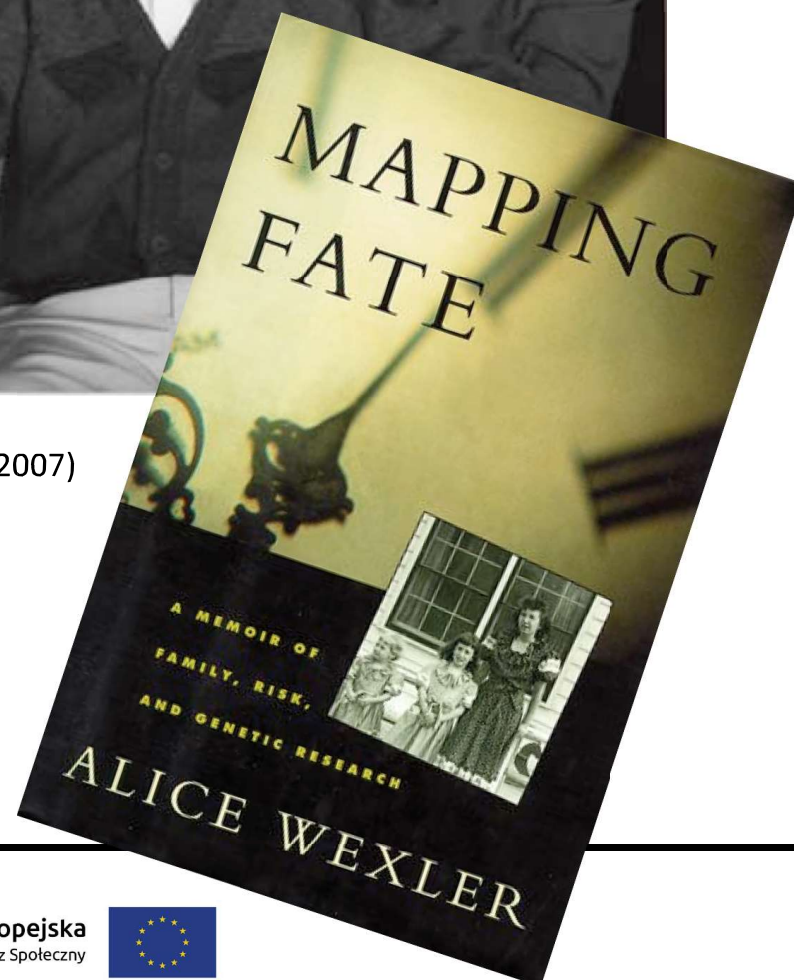


Woodrow Wilson "Woody" Guthrie (1912 –1967)



Dr. Milton Wexler (1908-2007)

**Marjorie Guthrie Committee to Combat
Huntington's Disease (Huntington's
Disease Society of America)**





A Global Effort to Support
People with HD



Przedstawia symbolicznie głowę i ramiona, jako że choroba zaburza zarówno funkcje poznawcze jak i fizyczne – dotyka umysłu i ciała.

Ponieważ choroba obniża możliwości normalnego życia chorych i powoduje ich zamknięcie we własnym cierpieniu, wewnątrz głównego symbolu umieszczono jego pomniejszone negatywowe odbicie.

Logo wyobrażone jest jako kwiat rozwijającej się i pulsującej życiem rośliny chroniącej go swymi liśćmi.

W ten sposób przedstawiony został główny cel Stowarzyszenia – niesienie pomocy i ochrona osób dotkniętych chorobą Huntingtona na całym świecie oraz ciągły rozwój poprzez włączanie do działalności przedstawicieli wszystkich krajów.