

Poradnictwo genetyczne w neonatologii.

Ewa Obersztyn

Kurs: Genetyka neonatologiczna – nie tylko testy przesiewowe

Warszawa 27.01.2021

PORADNICTWO GENETYCZNE

termin wprowadzony w 1947 roku przez Sheldona Reeda : Forma specjalistycznej pomocy medycznej rodzinom ryzyka genetycznego - .

1986: T.E. Kelly: „proces mający na celu udzielenie pomocy choremu lub/i osobom ryzyka genetycznego w zrozumieniu istoty choroby genetycznej, sposobu jej dziedziczenia, a także przekazanie informacji o możliwościach diagnostycznych i terapeutycznych choroby (również w kontekście planów prokreacyjnych)”

Różne definicje

**PORADNICTWO
GENETYCZNE**



GENETYKA KLINICZNA
(clinical genetics services)

**BADANIA (TESTY)
GENETYCZNE**
(genetic testing)

**PRZESIEWOWE
BADANIA GENETYCZNE**
(genetic screening)

Stałe spektrum pytań



- ✓ co jest naszemu dziecku ?
- ✓ dlaczego wada / choroba wystąpiła ?
- ✓ czy można było to przewidzieć / zapobiec ?
- ✓ czy można wyleczyć tę wadę / chorobę ?

Jeśli to choroba genetyczna, to co to oznacza dla nas i naszej rodziny ?

- ✓ czy może się powtórzyć u kolejnego dziecka ?
- ✓ jakie badania genetyczne trzeba wykonać, kiedy ?
- ✓ czy można rozpoznać chorobę w ciąży ?



Czy na pewno uda się wyjaśnić przyczynę choroby ?

Co będzie dalej – jakie jest dalsze rokowanie ?

Czynniki genetyczne w patologii noworodka

okres prenatalny

✓ 60% poronień samoistnych w I trymestrze ciąży

okres postnatalny

✓ 2 - 3% noworodków ma poważną chorobę genetyczną

✓ 3 - 5% noworodków ma 1 dużą wadę wrodzoną

✓ 5 - 20% noworodków rodzi się z mnogimi wadami wrodzonymi,
które są przyczyną 30 - 50% zgonów okołoporodowych

✓ 14% noworodków ma 1 małą wadę (tzw. drobne anomalie)

✓ ~1% żywo urodzonych noworodków ma chorobę monogenową

✓ 6 - 8% hospitalizowanych dzieci ma chorobę monogenową

choroby genetyczne jako przyczyna:

20 - 30% wszystkich zgonów niemowląt

Genetyczne uwarunkowanie choroby / wady oznacza:

Odchylenie od stanu prawidłowego powstałe na skutek

- ✓ błędu w zapisie lub realizacji informacji genetycznej zawartej w DNA .
 - przekazywanego z pokolenia na pokolenie lub
 - powstałego „*de novo*” jako wynik nowej mutacji
- ✓ sumującego się efektu zmienności (wariantów) wielu genów lub polimorfizmów genetycznych (choroby wieloczynnikowe - powszechne, cywilizacyjne)
- ✓ zaburzeń molekularnych mechanizmów przekazywania (ekspresji) informacji zawartej w DNA (zaburzenia transkrypcji, rodzicielskie piętnowanie genomowe „genomic imprinting”)

Rodzaje predyspozycji genetycznej w patologii u człowieka

Aberracje chromosomowe

Liczbowe: aneuploidie, poliploidie

Strukturalne: *de novo* / rodzinne (zrównoważone / niezrównoważone

w tym: translokacje, inwersje, izochromosomy,
chromosomy markerowe, delecje/duplikacje

Choroby monogenowe

autosomalne dominujące (AD)

autosomalne recesywne (AR)

sprzężone z chromosomem X

dominujące XL / recesywne (XR)

Znanych ok.7000 chorób monogenowych

Choroby dziedziczone nie-mendlowsko

mitochondrialne

wieloczynnikowe

zaburzenia epigenetyczne („genomic imprinting”)

Testy genetyczne w diagnostyce noworodka

Analiza na poziomie chromosomowym:

cytogenetyka klasyczna

✓ karyotyp – metody rutynowe (prążkowe GTG, HRT)

cytogenetyka molekularna:

✓ FISH (Fluorescencyjna hybrydyzacja in situ) - metafazowy, interfazowy

✓ MLPA i modyfikacje, HR-CGH, QF-PCR

✓ porównawcza hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy (aCGH)

Analiza na poziomie DNA / RNA

✓ analiza mutacji (PCR, Sekwencjonowanie Następnej Generacji (NGS))

✓ sekwencjonowanie DNA met. Sangera

✓ analiza dziedziczenia markerów (np. mikrosatelitów)

✓ analiza ekspansji powtórzeń nukleotydowych (met. Southerna)

✓ analiza metylacji: MS-MLPA

Testy biochemiczne – analiza produktu genu

✓ analiza aktywności enzymów, metabolitów, białek

Cel wykonania testów genetycznych

- analiza genotypu
- określenie korelacji fenotypowo-genotypowej)
- weryfikacja toku dziedziczenia choroby
- wskazanie osób ryzyka genetycznego w rodzinie
- określenie ryzyka powtórzenia choroby w rodzinie

Znaczenie testów genetycznych

diagnostyczne: potwierdzenie/wykluczenie rozpoznania
klinicznego

terapeutyczne: „medycyna spersonalizowana”

profilaktyczne: poradnictwo genetyczne
diagnostyka prenatalna

predykcyjne: testy przedobjawowe / testy predyspozycji

Zaplanowanie genetycznych badań diagnostycznych

Warunki określające zasadność przeprowadzenia testów genetycznych

- ✓ Obecność objawów choroby wskazujące na wysokie prawdopodobieństwo ich genetycznego uwarunkowania / obciążenie rodzinne określoną chorobą (wadą) / podwyższone ryzyko nosicielstwa określonej mutacji/aberracji wynikające z analizy rodowodu
- ✓ Możliwość zastosowania w diagnostyce określonej patologii swoistego i czułego markera diagnostycznego – wybór metody diagnostycznej !

Wyrażenie przez pacjenta / opiekuna tzw. świadomej zgody na badanie genetyczne (dobrowolność / niedyrektywność / poufność)

- ✓ **Porada genetyczna przed i po przeprowadzeniu badania !**
omówienie wskazań medycznych do diagnostyki, zakresu możliwości diagnostycznych planowanego testu genetycznego, oraz spodziewanych wyników badania oraz dalszych konsekwencji dla rodziny.

Podejrzenie genetycznego uwarunkowania choroby
stanowi bezwzględne wskazanie do zapewnienia
rodzinie porady genetycznej

Poradnictwo genetyczne to proces, a nie jedna konsultacja !

- ✓ Wywiad lekarski / Analiza rodowodu
- ✓ Ustalenie (weryfikacja) diagnozy klinicznej
- ✓ Zaplanowanie i omówienie wyników badań diagnostycznych
- ✓ Określenie ryzyka genetycznego dla rodziców i krewnych **ocena**
czynników ryzyka , które mogą mieć znaczenie dla przyszłych ciąż oraz
potomstwa krewnych
- ✓ Przekazanie porady genetycznej (przekazanie informacji o rozpoznaniu choroby, prognozowaniu jej dalszego przebiegu, możliwościach terapeutycznych, metodach oraz zakresie możliwości diagnostyki prenatalnej)
- ✓ opieka psychologiczna dla rodziców / follow-up / grupy wsparcia

Czynniki ryzyka - wady / choroby genetycznej - **znaczenie wywiadu**

zidentyfikowane wcześniej rodziny ryzyka genetycznego

- ✓ wiek kobiety > 35 lat: **wzrost ryzyka aneuploidii chromosomowych**
wzrost ryzyka wad wrodzonych
- ✓ wcześniejsze urodzenie dziecka z wadą wrodzoną /ch. monogenową
- ✓ jedno z małżonków dotknięte chorobą genetyczną
- ✓ nosiciele strukturalnych aberracji chromosomowych / mutacji
- ✓ pokrewieństwo małżonków / pochodzenie z określonych grup etnicznych
- ✓ obciążony wywiad rodzinny (poronienia, wczesne zgony o nieustalonej etiologii, wady wrodzone / cechy dysmorfii /niepełnosprawność intelektualna u krewnych
- ✓ choroba matki (cukrzyca, PKU, DM1, leki w ciąży, cz. teratogeny, alkohol)
- ✓ metody wspomaganego rozrodu ? (IVF, diagnostyka preimplantacyjna)

W poszukiwaniu przyczyn patologii u noworodka.....

Początek problemu...coraz częściej... okres prenatalny



- badania obrazowe
USG / ECHO / MRI płodu
- diagnostyka prenatalna
nieinwazyjna / inwazyjna

- wady strukturalne, IUGR, dysharmonia budowy (skrócenia / wady ubytkowe kończyn), zaburzenia ilości wód płodowych, słabe ruchy płodu, zaburzenia rytmu serca, nieimmunologiczny obrzęk płodu, patologia łożyska, dodatnie markery usg. aberracji chromosomowych I i II trymestru
- Nieprawidłowe wyniki: testów przesiewowych I / II trymestru (*białko PAPP-A, β hCG, uE3, AFP, metabolity 7-dehydrocholesterolu*); (cff DNA w krwioobiegu matki (testy NIPT (non - invasive prenatal tests).
- Nieprawidłowy wynik karyotypu / analizy DNA u płodu (amniopunkcja / biopsja trofoblastu / kordocenteza)

W poszukiwaniu przyczyny patologii u płodu.....noworodka.....

Usg I trymestr

- NT 2,8mm

Usg 21 tygodni

- Cechy hipotrofii płodu, VSD ?
- Stopa końsko - szpotawa
- Jednostronny rozszczep wargi

Wywiad położniczy

- 4 x poronienie samoistne
- 1 x martwe urodzenie 41 tyg.
- cukrzyca ciążowa u matki
- 4 dzieci zdrowych
- rodzice kariotypy prawidłowe

Brak korelacji fenotypu
z % mozaiki

rokowanie ?

opieka hospicjum ?

1 doba życia



Rozszczep podniebienia
Dysmorfia

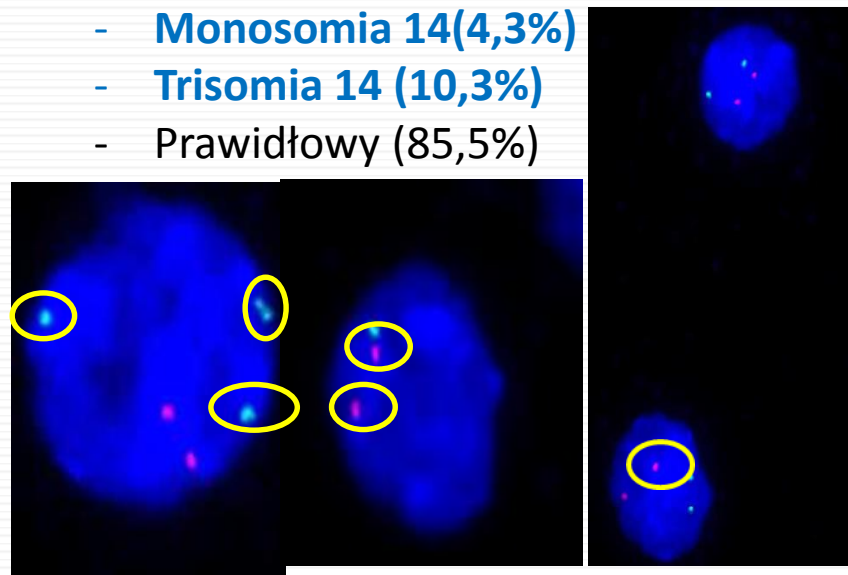
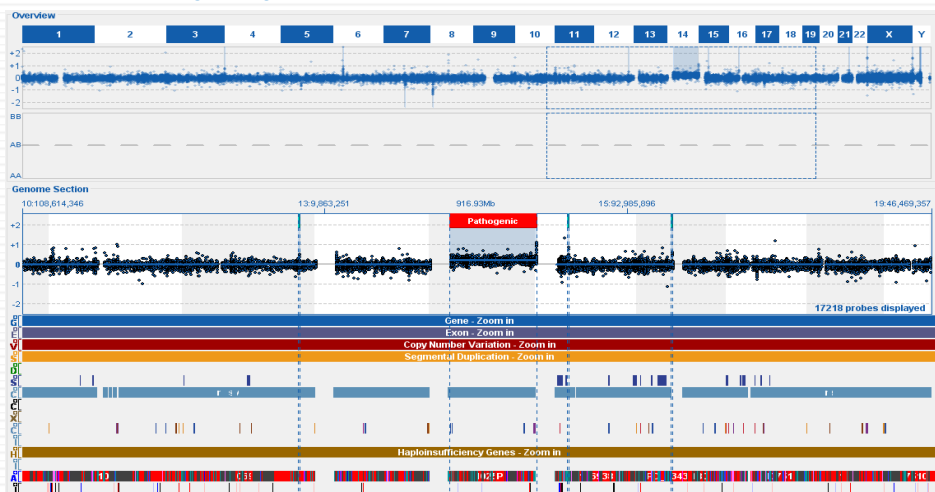
Kariotyp rutynowy po urodzeniu:

Mos 47,XY,+14[2]/46,XY[53] (mos 3,6%)

FISH interfazowy po urodzeniu

- Monosomia 14(4,3%)
- Trisomia 14 (10,3%)
- Prawidłowy (85,5%)

Mozaika (8%) trisomia chromosomu 14 *de novo*



Początek problemu.....równie często po urodzeniu.....

- na etapie prenatalnym nie stwierdzono patologii u płodu.....
 - nie wykonywano „badań prenatalnych”.....

Zespoły dysmorficzne – często diagnoza kliniczna wkrótce po urodzeniu



Im więcej drobnych wad
u noworodka, tym większe
prawdopodobieństwo
wystąpienia dużych wad
wrodzonych !



Wyniki diagnostyki prenatalnej – prawidłowe, ale po porodzie..

„facial gestalt ” - rozpoznanie na podstawie:

- **cech dysmorfii**
- wyników badań obrazowych
- oceny cech antropometrycznych
- wyników badań biochemicznych /hormonalnych
- **weryfikacja diagnozy - testy genetyczne !**

z. Freeman-Sheldona



z. Sticklera



Cutis laxa

z. Beckwith'a-
Wiedemanna



Rybia łuska



z.OFD



Przyczyny konsultacji genetycznych

podejrzenie choroby genetycznej u noworodka

- mnogie wady wrodzone, rzadziej izolowane
- liczne cechy dysmorfii
- **dysharmonia w budowie ciała:** hipotrofia, makrosomia, małogłowie, makrocefalia, skrócenie kończyn, asymetria L/P, wąska klatka piersiowa
- **zaburzenia napięcia mięśniowego:** hipotonia / hipertonia / miopatia
- **defekty skóry:** uogólniony obrzęk struktur ciała, zmiany pęcherzowe, aplazja skóry, rybia łuska „colodion”, naczyniaki, zaburzenia pigmentacji, nadmierna elastyczność (cutis laxa)
- **zaburzenia okresu adaptacyjnego:** zaburzenia oddychania, połykania, przedłużona żółtaczka, zaburzenia układu krzepnięcia, zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej, zaburzenia jonowe, hipoglikemia, hyperamonemia, cholestaza
- **objawy neurologiczne:** drgawki, bezdech, oczopląs
- **zaburzenia hormonalne:** niedoczynność nadnerczy, tarczycy, przytarczyc
- **hepatomegalia, splenomegalia, kardiomegalia, przerost nadnerczy,**
- **niedosłuch wrodzony, zaćma wrodzona**
- **meconium ileus, ch. Hirschsprunga**

Mechanizmy patogenetyczne wad wrodzonych

Malformacje / sekwencje malformacyjne: zaburzenia pierwotne powstałe na etapie zarodka:

agenezja nerek, wada serca, polidaktylia, holoprosencefalia
rozszczep wargi, omphalocele, wytrzewienie, wady cewy nerwowej

Deformacje / sekwencje deformacyjne: spowodowane czynnikami mechanicznymi: **cz. matczyne** (wady rozwojowe / guzy, macicy)
cz. płodowe (ciąże mnogie, małowodzie, zaburzenia neurologiczne u płodu - choroby mięśni, akinezja płodu.

Przerwania: zaburzenia pierwotnie prawidłowego rozwoju (TORCH, z. błon amniotycznych

Dysplazje: defekt różnicowania komórek w tkanki w embriogenezie:
np. dysplazje szkieletowe

Zespoły: wszystkie zaburzenia powiązane patogenetycznie:

np. z. Meckela-Grubera, z. Smitha-Lemli-Opitz'a, z. Frasera, z. Robertsa, z. Marfana, NF1, z. Downa, Patau'a, Edwardsa, Millera-Dieckera, Williams'a.

Asocjacje: nieprzypadkowe skojarzenia wad rozwojowych u jednej osoby (akronimy)

V – wady kręgow (ang. **v**ertebral anomalies)

A – atrezja odbytu (**a**nal atresia)

C – wrodzone wady serca (**c**ardiac abnormalities)

T – przetoka tchawiczo oskrzelowa (**t**racheo- esophagal fistula)

E – atrezja przełyku (**e**sophagal atresia)

R – wady nerek (**r**enal abnormalities)

/ dysplazja kości promieniowej (**r**adial dysplasia)

L – wady kończyn (**l**imb abnormalities)

VACTERL-H (wodogłowie ang. **h**ydrocephalia)

Etiologia nieznana

do rozpoznania konieczne
wystąpienie 3 - 4 objawów !



Duże wady wrodzone - częstość występowania

Narząd częstość na 1000 żywo urodzonych

Serce	10,8	} ~30 / 1000
Mózg	10	
Nerki	4	
Kończyny	2	
Inne	8	

Wady serca – zwykle mają charakter izolowany

1/3 ciężkie wady serca

2,2% - krewny I st. z wadą serca

a jednak - 25% ma też inną wadę rozwojową

układu mięśniowego	(9%)
układu nerwowego	(8%)
układu moczowego	(5%)
układu pokarmowego	(4%)

**w 10% - współistnieje z niepełnosprawnością intelektualną,
z tego w 50% st. znacznego**

Wiele spośród wad to..... choroby letalne.....

w okresie: zarodkowym / płodowym / noworodkowym

☐ choroby z uogólnionym obrzękiem płodu

☐ dysplazje szkieletowe

☐ wrodzone choroby metaboliczne

- ✓ **aberracje chromosomowe** (np. triploidia, trisomia 18, trisomia 13, trisomia 22)
- ✓ **zespoły mnogich wad wrodzonych** (monogenowe): np. z. Meckela, z. Smitha – Lemli - Opitz'a, z. Frasera)
- ✓ **izolowane wady wrodzone / sekwencje wad** (np. agenezja nerek, bezmózgowie, rozległe przepukliny mózgowe, oponowo rdzeniowe, cyklopedia).

Wiele spośród wad to..... choroby letalne.....

Myślenie genetyczne....a może to jest choroba genetyczna ?

przed
ciążą

w trakcie
ciąży

po porodzie

dokładny opis stwierdzanych nieprawidłowości

zdjęcia fotograficzne stwierdzanej patologii !!

zdjęcia radiologiczne („babygram” – dysplazje szkieletowe)

badanie autopsyjne / badania mikroskopowe

zabezpieczenie materiału do badań diagnostycznych

izolacja DNA z krwi lub innych tkanek

próbka krwi / krew na bibułę/ wycinek skóry / mięśnia

próbki moczu / płyn mózgowo-rdzeniowy

Elements of Morphology: Introduction

Judith E. Allanson,¹ Leslie G. Biesecker,² John C. Carey,³ and Raoul C.M. Hennekam^{4,5*}¹Department of Genetics, Children's Hospital of Eastern Ontario, Ottawa, Canada²National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland³Division of Medical Genetics, Department of Pediatrics, University of Utah, Salt Lake City, Utah⁴Clinical and Molecular Genetics Unit, Institute of Child Health, Great Ormond Street Hospital for Children, UCL, London, UK⁵Department of Paediatrics, Academic Medical Center, UVA, Amsterdam, The Netherlands

Received 4 September 2008; Accepted 19 September 2008

Elements of Morphology: Standard Terminology for the Periorbital Region

Bryan D. Hall,^{1*} John M. Graham Jr.,² Suzanne B. Cassidy,³ and John M. Opitz⁴¹Department of Pediatrics, University of Kentucky, Lexington, Kentucky²Medical Genetics Institute, Cedars-Sinai Medical Center, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, California³Division of Medical Genetics, Department of Pediatrics, University of California—San Francisco, San Francisco, California⁴Departments of Pediatrics (Division of Medical Genetics), Pathology, Human Genetics, Obstetrics and Gynecology, University of Utah Health Sciences Center, Salt Lake City, Utah

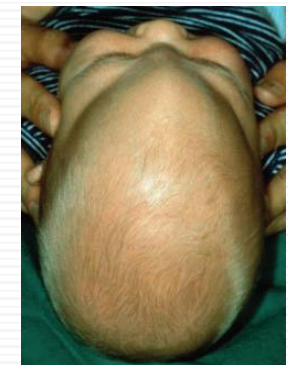
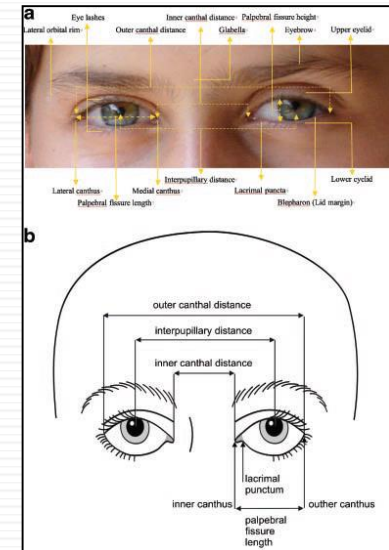
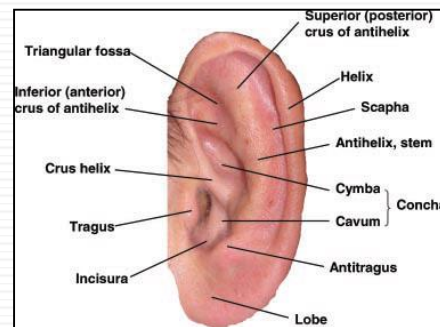
Received 18 September 2008; Accepted 15 October 2008

Elements of Morphology: Standard Terminology for the Ear

Alasdair Hunter,^{1*} Jaime L. Frias,² Gabriele Gillesen-Kaesbach,³ Helen Hughes,⁴ Kenneth Lyons Jones,⁵ and Louise Wilson⁶¹Department of Genetics, Children's Hospital of Eastern Ontario, Ottawa, Canada²Department of Pediatrics, Birth Defects Center, University of South Florida, Tampa, Florida³Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Germany⁴Institute of Medical Genetics, University Hospital of Wales, Cardiff, UK⁵Division of Dysmorphology and Teratology, Department of Pediatrics, University of California, San Diego, La Jolla, California⁶Department of Clinical Genetics, Great Ormond Street Hospital, University College London, London, UK

Received 9 September 2008; Accepted 15 October 2008

Elements of Morphology: Standard Terminology for the Head and Face

Judith E. Allanson,^{1*} Christopher Cunliffe,² H. Eugene Hoyme,³ Julie McGaughan,⁴ Max Muenke,⁵ and Giovanni Neri⁶¹Department of Genetics, Children's Hospital of Eastern Ontario, Ottawa, Canada²Section of Medical and Molecular Genetics, Department of Pediatrics, University of Arizona, Tucson, Arizona

Specyficzne spektrum objawów dla określonego zespołu !

Zespoły kraniostenoz

- z. Apert
- z. Crouzona
- z. Pfeiffer
- z. Antley-Bixler

Pogrubienie rysów twarzy

- z. Beckwith'a-Wiedemanna
- GM1 gangliozydoza
- choroba I-cell
- z. Pallister-Killian
- z. Simpson-Golabi-Behmel
- z. Fryns'a

Sekwencja Pierre - Robina

- z. Sticklera
- z. Cerebro-costo-mandibular
- z. Treacher - Collins
- z. FAS
- z. delecji 22q11
- z. kampomelicznej dysplazji
- z. diastroficznej dysplazji

Wady rozszczepowe twarzy

- z. Patau'a
- z. EEC
- z. Sticklera
- z. mikrodelecji 22q11.1
- z. Van der Woude /PPS

Wady kończyn

- z. Aperta
- z. Cornellii de Lange
- z. Edwardsa
- z. EEC
- trisomia 8 w mozaice
- z. Marfana

Patologia neurologiczna

- z. Miller - Diekera
- z. Patau'a
- z. Zellwegera

Wady narządów płciowych

- dysplazja kampomeliczna
- z. Opitz G
- z. Smith-Lemli-Opitz
- z. CHARGE
- z. nadnerczowo-płciowy

Heterogenność wad/chorób wrodzonych

Sekwencja Pierre – Robina

- wada izolowana
- delecja/duplikacja 22q11.2 (11%)
- zespół Sticklera (34%)
- dysplazja kampomeliczna
- zespół mózgowo-żebrowo-żuchwowy
- dysplazja diastroficzna
- zespół Treacher – Collins
- zespół poalkoholowy



Pleiotropowość w chorobach genetycznych

Ta sama etiologia genetyczna – różne skutki kliniczne

- cechy dysmorficzne twarzy
- hipotonia, opóźnienie rozwoju psychoruchowego
- wady serca, nerek, zwężenie odźwiernika
- niedrożność XII-cy
- zaćma
- padaczka
- niedoczynność tarczycy
- niepełnosprawność intelektualna

Zespół Downa
trisomia chr. 21



✓ Ustalenie rozpoznania – weryfikacja kliniczna źródła informacji

OMIM® Online Mendelian Inheritance in Man®
An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders
Updated 10 October 2016

Search OMIM...

www.genetests.org/resources/genereviews.php

GeneTests™

home disorders genes tests laboratories clinics professionals resources

GeneReviews

Alphabetical list of GeneTests disorders for which a GeneReview is available.

1 2 3 4 9 A B C D E F G H I J K L M
N O P R S T U V W X Y Z

ECARUCA

European Skeletal Dysplasia Network

www.esdn.org

About Procedures Case Manager

UNIVERSITY OF OULU
Universiteit Antwerpen
UNIVERSITY OF NEWCASTLE UPON TYNE
UNIL UNIVERSITE DE LAUSANNE
UNIVERSITÄT FREIBURG

Home Welcome to the European Skeletal Dysplasia Network

FACE2GENE

Dr. John Doe

120 12 71 37

My Cases
Blepharophimosis
Community

Case #12345678
Pending

Case #10005
Molecularly diagnosed: Sotos

Case #10000
Record No. 23EADFF
Pending

Case #10040
Molecularly diagnosed: Cornelia de Lange Syndrome

Case #10070
Molecularly diagnosed: Sotos

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed

NCBI Resources How To

PubMed.gov

US National Library of Medicine
National Institutes of Health

PubMed Advanced

ORPHANET, LDDb, PhenoTips

Genome Research Limited [GB] | https://decipher.sanger.ac.uk

DECIPHER About Browse DDD(UK) Search DECIPHER Join Login

DECIPHER

Mapping the clinical genome

Explore DECIPHER
It's free and you don't need to log in

Join DECIPHER
Be part of the sharing community

Already a member?
Log in to access your patient data



ZRÓŻNICOWANA ETIOLOGIA WAD / CHORÓB WRODZONYCH

➤ Aberracje chromosomowe	6%
➤ Choroby monogenowe	7.5%
➤ Choroby poligenowe	30%
➤ Choroby matki (np. cukrzyca, PKU, padaczka)	3%
➤ Choroby infekcyjne (TORCH, wirusy)	2%
➤ Leki, cz. chemiczne i fizyczne (alkohol, kw. walproinowy, karbamazepina, retinoidy, sole litu, talidomid)	1,5%

Etologia ~ 50% izolowanych wad wrodzonych jest nieznana

Zróżnicowanie etiologiczne - małogłowie wrodzone

Choroby monogenowe

- Zespoły niestabilności chromosomów: z. Nijmegen
z. Blooma, ataksja – teleangiektazja.
- z. Seckela, z. Smith-Lemli - Opitz, z. Cornellii de Lange,
- z. Rubinstein-Taybi,
- z. lissencephalii (AD, AR)
- małogłowie izolowane pierwotne: AD, AR.

Aberracje chromosomowe: trisomie 21, 13, 18

del5p, del4p, del18p, del 13q, del 18q

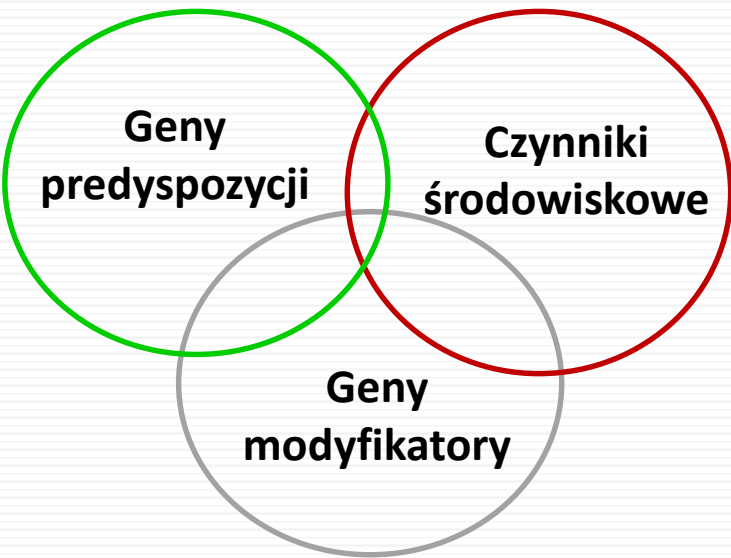
Zespoły mikrodelecji/mikroduplikacji: z. del1p36, z. Williamsa,
z. Miller-Diekera,

Choroby uwarunkowane nie genetycznie: PKU matczyna,
FAS, polekowe (kokaina)

**Infekcje (CMV, różyczka wrodzona, opryszczka wrodzona,
wirus Zika – prenatalna ekspozycja)**

Izolowane wady wrodzone

Prawie zawsze są uwarunkowane poligenowo (wieloczynnikowo)
ryzyko powtórzenia wady dla krewnych I st. zwykle małe
zależy od:



predyspozycji genetycznej (podatność)
pokrewieństwa w stosunku do probanda
płci probanda
stopnia nasilenia objawów
ilości osób chorych w rodzinie
częstości występowania wady w populacji

Niedobór kw. foliowego
Cukrzyca matki
Alkohol
Leki teratogenne
Dieta



Ryzyko powtórzenia

Wady serca	2 - 4%
Rozszczep wargi i / lub podniebienia	3%
Wady cewy nerwowej	3%
Wrodzone zwężenie odźwiernika	2%

Czynniki ryzyka wad serca

- Niedobór kw. foliowego, cukrzyca / otyłość u matki, NT w ciąży, leki, ciążę bliźniacze, ART.

Ryzyko powtórzenia wady

- izolowane – 4% (2-4 krotnie wyższe niż populacyjne)
- wyższe dla krewnych probanda płci żeńskiej
- zależy od typu wady
 - 10-15% dla HLHS, TOF, niższe dla dTGA
 - w 69% przypadków ta sama wada u rodzeństwa

w 50% przypadków etiologia wad serca nieznana

~45% przypadków znane geny (izolowane / syndromiczne)

~10% ciężkich wad: punktowe mutacje *de novo*, 30% rodzinne

~9 -18%: aberracje chromosomowe (- aneuploidia: 5-8%)

wady serca – występują u 30% dzieci z aberracjami chromosomowymi

Częstość najczęstszych aneuploidii chromosomowych

Trisomia 21	1 in 700 żywo urodzonych
Trisomia 18	1 in 7500 żywo urodzonych
Trisomia 13	1 in 15 000 żywo urodzonych
Monosomia X (z. Turnera)	1 in 5000 dziewczynek
Trisomia X	1 in 1000 dziewczynek
XXY (z. Klinefeltera)	1 in 1000 chłopców
XYY	1 in 2000 chłopców

Aneuploidia chromosomowa

- stanowi 65 – 85% wszystkich stwierdzanych prenatalnie aberracji chromosomowych
- **odpowiedzialna jest za 80 – 95% wad wrodzonych noworodków**

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF.
Thompson & Thompson genetics in medicine. 7th
edition. Philadelphia: Saunders/Elsevier;2007.

Wskazania do oceny kariotypu w okresie noworodkowym

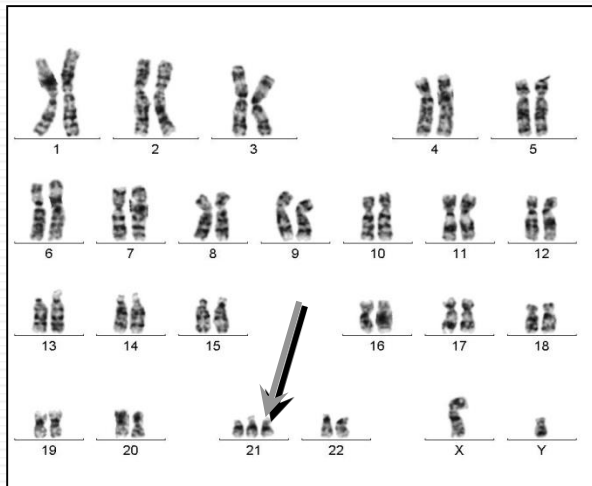
tzw. „fenotyp chromosomowy”

- stwierdzenie zespołu wad wrodzonych /cech dysmorfii małogłowie / makrocefalia / wady kończyn
- stwierdzenie charakterystycznych cech określonego zespołu chromosomowego
- nieprawidłowa budowa zewnętrznych narządów płciowych, obojnactwo, zaburzenia jonowe
- znacznego stopnia hipotrofia / hipertrofia / asymetria
- hipotonia mięśniowa / dysmorfia / wady wrodzone
- nieimmunologiczny obrzęk płodu w wywiadzie
- weryfikacja wyniku badania prenatalnego (aberracja chromosomowa stwierdzona w badaniu płynu owodniowego / trofoblastu /w krwi płodowej)

Prognozowanie ryzyka genetycznego

Tylko wynik kariotypu rozstrzyga o wielkości ryzyka genetycznego

z. Downa

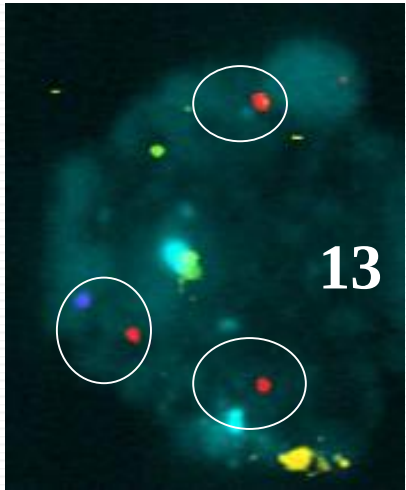


95% trisomia prosta chr. 21
1% mozaika chromosomowa
4% translokacja niezrównoważona
*„de novo” lub jedno z rodziców jest
nosicielem translokacji zrównoważonej*

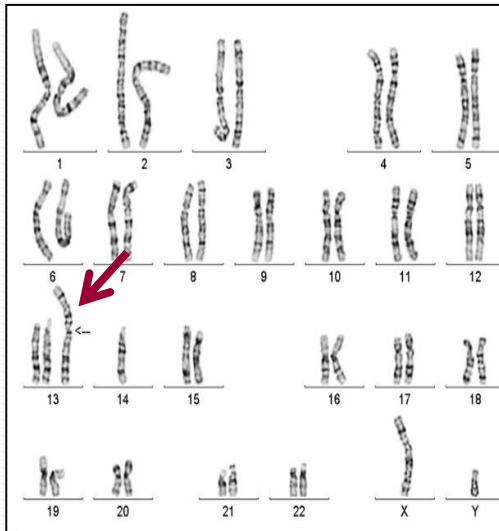
Typ aberracji	Nosiciel (rodzic)	Ryzyko %
Translokacja 13; 14	Którykolwiek	zmiana
Translokacja 14; 21	ojciec	1
Translokacja 14; 21	matka	15
Translokacja 21; 22	ojciec	5
Translokacja 21; 22	matka	10 -15
Translokacja 21; 21	którykolwiek	100
Translokacja wzajemna (każda)	którykolwiek	12 -15
Insercja (każda)	którykolwiek	50

Trisomia chromosomu 13 (z. Patau'a)

małogłowie, holoprosencefalia
małocze, hiperteloryzm
rozszczerzenie wargi i podniebienia
polidaktylia pozaosiowa
ubytki skóry, wady serca, nerek
wnętrostwo, hipotonia, opóźnienie
rozwoju st. znacznego

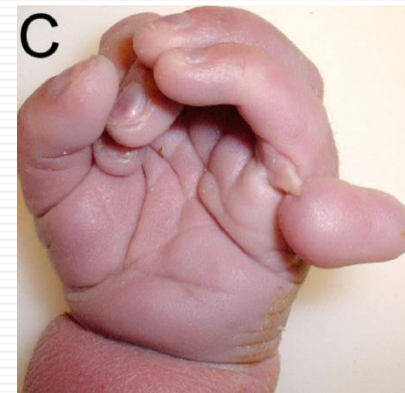


szybka detekcja aneuploidii/ poliploidii
w diagnostyce pre- i postnatalnej



aberracja letalna?

- żywe urodzenie: 28-46%
- śr. czas przeżycia: 10 dni
- czas przeżycia > 1 tyg. : 45-57%; > 1 roku: 14-21%



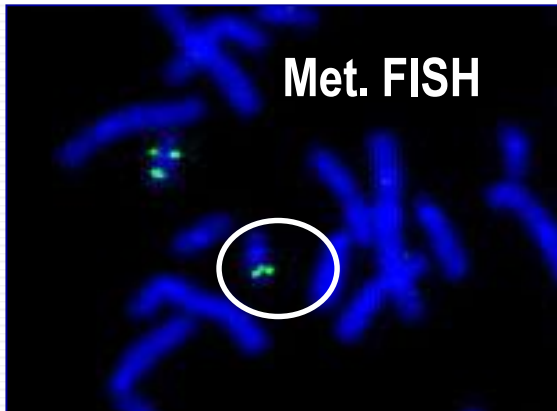
Uwaga !

Kariotyp matki: 45,XX(13;14)(q10q10)

46,XY,der(13;14)(q10;q10)+13

W poszukiwaniu przyczyny wad wrodzonych u noworodka....

submikroskopowe aberracje chromosomowe (mikrodelecje/ mikroduplikacje



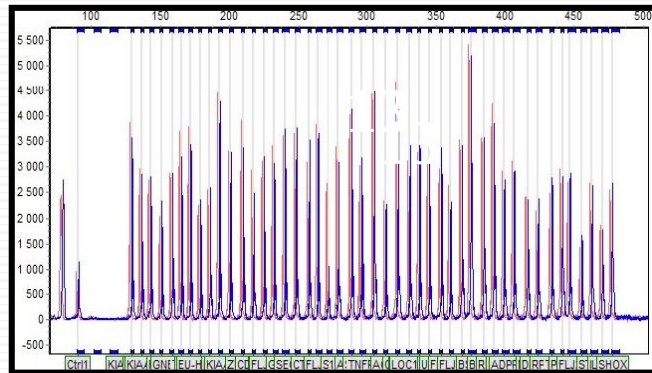
dysmorfia twarzy
wiotkość podniebienia,
ulewanie przez nos
rozszezc podśluzówkowy
podniebienia

tetralogia Fallota

Delecja 22q11.2

1 doba życia

METODA FISH-FLUORESCENCE HYBRIDISATION IN SITU



Metoda MLPA

Delecja 22q11.2

wielkość delecji: ~1,5 - 3 Mbp

Wymagana wcześniejsza diagnoza kliniczna

- wykrywanie submikroskopowych aberracji
- precyzyjne określenie typu aberracji (addycje, translokacje, chr. markerowe)

Ryzyko genetyczne ? - konieczne badanie pochodzenia zmiany !

zespoły mikrodelecji / mikroduplikacji - subtelomerowe / - interstycjalne

częstość występowania: 0,7 – 1/1000

- w większości przypadków powstają *de novo*
- *dziedziczenie autosomalne dominujące*

Fenotyp jest wynikiem braku funkcji (delecje) lub nadekspresji genu (ów) wrażliwych na dawkę zlokalizowanych w tzw. „krytycznym regionie” zmiany

z. mikrodelecji

1p36



IUGR, hipotonia,
małogłowie,
agenezja ciała
modzelowatego,
rozszczip wargi
/ podniebienia,
wada serca
(zespół Ebsteina,
dysmorfia



Z. Miller-Diekera mikrodelecja 17p13.3 (gen *LIS1*)

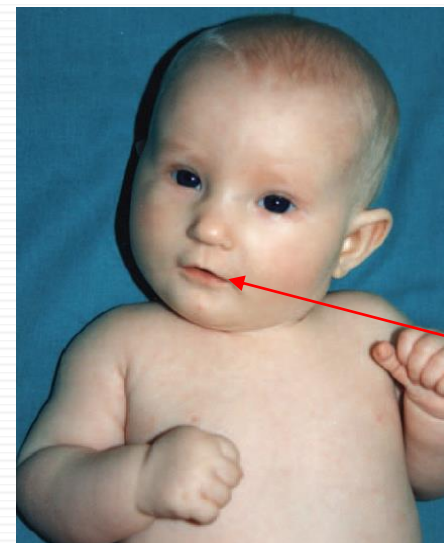
gładkomózgowie
padaczka
wady narządów
płciowych



Zespół Pradera-Willi'ego

wiotkość osiowa
brak odruchu ssania
trudności w karmieniu (50% wymaga karmienia
przez sondę żołądkową), gęsta lepka ślina
zaburzenia termoregulacji (hipotermia) bradykardia,
apatia, brak przyrostu masy ciała

delecja 15q11-13



Cechy dysmorfii: wysokie
czoło, migdałkowatego kształtu
szpary powiekowe, wąski wymiar
dwuczołowy, wąska czerwien
wargi górnej, kąciaki ust ku dołowi
(górną wargę zachodzi na dolną)
małe dłonie i stopy
wnętrostwo



Rodzicielskie piętnowanie genomowe „genomic imprinting”

zespół Angelmana



Ryzyko genetyczne
zależne od typu defektu
molekularnego !

region
15q11-13

Delecje
UPD
Defekty imprintingu
Aberracje
chromosomowe

Hipotonia

Ataksja, zaburzenia chodu
Brak rozwoju mowy
Padaczka
Napady śmiechu
Małogłowie wtórne
Dysmorfia
Makrostomia,
stereotypie dłoni,
NI st. znacznego

brak ekspresji informacji genetycznej
pochodzenia ojcowskiego:
- zespół Pradera-Williego

brak ekspresji informacji genetycznej
pochodzenia matczynego:
- zespół Angelmana

zespół Pradera -Williego



Hipotonia

Brak odruchu ssania

Trudności w karmieniu
Słaby przyrost m.ciała
Hiperfagia ok. 4-5 lat
Otyłość > 3 lat
Zaburzenia zachowania
Niski wzrost
Małe dłonie i stopy
Dysmorfia

Choroby uwarunkowane rodzicielskim piętnowaniem genomowym rozpoznawane u noworodka

Region krytyczny

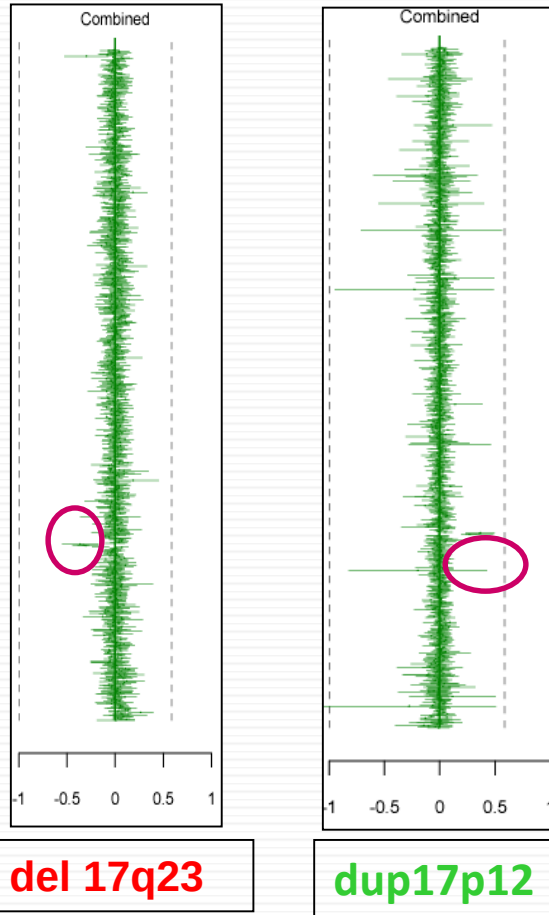
• zespół Pradera - Williiego	15q11-13
• zespół Beckwith'a - Wiedemann'a	11p15.5
• zespół Silver - Russella	11p15.5
• przejściowa cukrzyca noworodków	6q24
• mat UPD14	14q32
• pat UPD14	14q32
• wrodzona niedoczynność przytarczyc typ 1b	20q12-13

Porównawcza hybrydizacja do mikromacierzy (array CGH)

detekcja zmian (1MPz – 1 pz)

Zmiana liczby kopii sekwencji DNA (CNVs)

„Kariotyp molekularny”



możliwość identyfikacji submikroskopowych aberracji w całym genomie !

- ✓ bez uprzedniej wiedzy o ich istnieniu
- ✓ podczas jednego badania.
- ✓ duża liczba pacjentów w krótkim czasie
- ✓ nie wymaga hodowli komórkowej
- ✓ **wynik w ciągu 24 - 48 godzin !**

Obecnie w IMiD stosowana jako pierwsza w wyborze w

☐ postnatalnej diagnostyce wielu zaburzeń rozwoju

wady wrodzone/cechy dysmorfii / NI

detekcja zmian w genomie

18 - 24% przypadków

wady wrodzone serca 18%

☐ prenatalnej diagnostyce w przypadkach wad strukturalnych u płodu

mnogie wady wrodzone: 9 -17% (śr 6,8%)

Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.

2017 Jul;42:53-63.

Clin Lab Med. 2016 Jun;36(2):261-76

Choroby uwarunkowane monogenowo

➤ **5000 chorób monogenowych – znana etiologia (znany gen)**

➤ ~ 800 chorób skatalogowanych w OMIM
(Online Mendelian Inheritance in Man (www.omim.org))

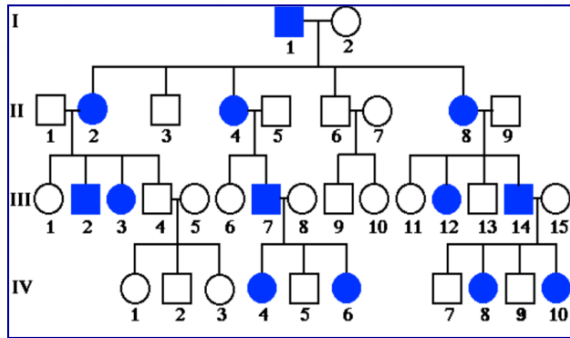
manifestuje objawy w okresie noworodkowym

Np..

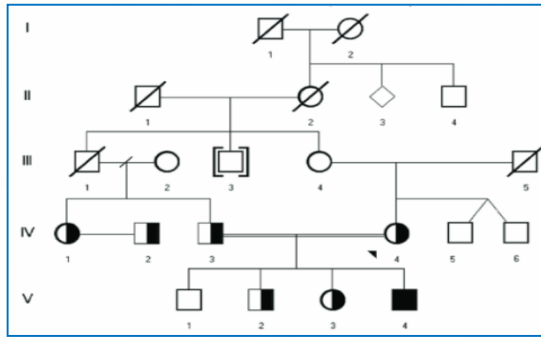
Mukowiscydoza (CF), Fenylketonuria (PKU), Rdzeniowy zanik mięśni (SMA),
Wrodzony przerost kory nadnerczy (WPN), z. Sticklera, z. CHARGE,
wrodzona łamliwość kości (osteogenesis imperfecta), achondroplazja
z. Beckwitha-Wiedemann'a, z. Silver-Russella, z. Rubinstein - Taybi ,
z. Noonan, z. Costello, z. Crouzona, z. Aperta, z. Treacher-Collins
z. Cornelli de Lange, z. Pradera-Williego, z. Frasera, dysplazja kampomeliczna,
dysplazje szkieletowe, epidermolysis bullosa, z. Robinow, z. TAR,
Małogłowie pierwotne, choroby metaboliczne,

Analiza rodowodu

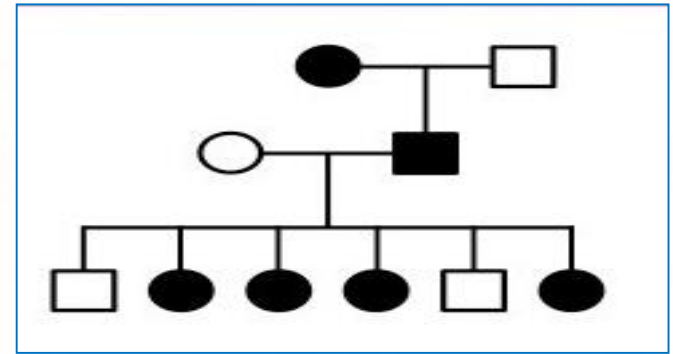
Autosomalne dominujące



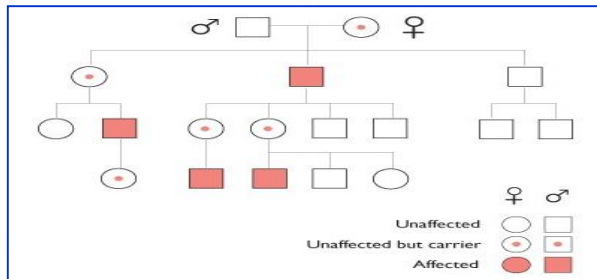
Autosomalne recesywne



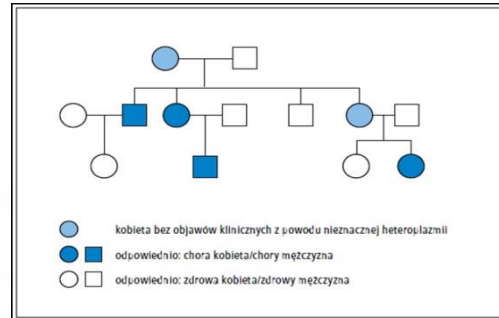
Dominujące sprzężone z ch. X



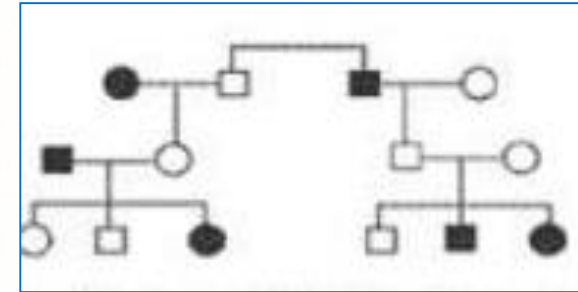
Recesywne sprzężone z ch. X



mitochondrialne



wieloczynnikowe

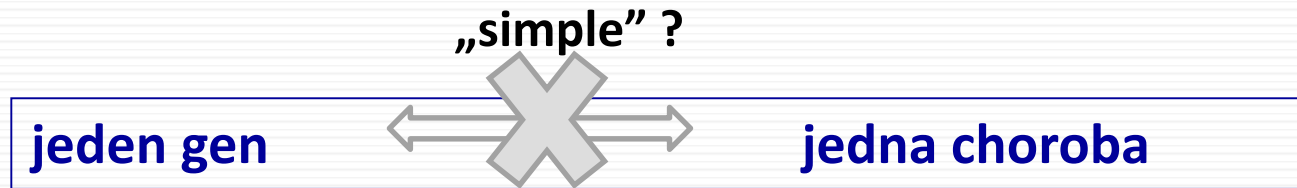


- ocena rozmieszczenia cech genetycznych w rodzinie
- ocena zróżnicowanej ekspresji choroby u różnych członków rodziny
- **określenie przypuszczalnego toku dziedziczenia choroby**
- ocena ryzyka dla poszczególnych członków rodziny
- planowanie badań diagnostycznych w rodzinie
- identyfikacja bezobjawowych nosicieli mutacji genowych / chromosomowych

Rodzaj choroby	Ryzyko powtórzenia u rodzeństwa	Testy genetyczne (weryfikacja diagnozy)
Aberracje chromosomowe	~ 1% jeśli kariotypy rodziców są prawidłowe 3 -15% jeśli rodzic jest nosicielem zrównoważonej aberracji	ocena kariotypu: -cytogenetyka klasyczna -cytogenetyka molekularna
Autosomalne dominujące	mutacje <i>de novo</i> : bliskie populacyjnemu (mozaikowość germinalna) 50% jeżeli jedno z rodziców jest chore	analiza DNA
Autosomalne recesywne	25% dla potomstwa obu płci	analiza DNA
Sprzężone z chr. X	50% dla syna jeśli matka jest nosicielką mutacji mutacje <i>de novo</i> : bliskie populacyjnemu (mozaikowość germinalna) 100% córek chorego mężczyzny jest nosicielkami mutacji	analiza DNA
Wieloczynnikowe	Zróżnicowane (2-15%) w zależności od typu wady, liczby chorych w rodzinie, płci probanda, częstości w populacji	ryzyko empiryczne dla określonej wady / choroby
Mitochondrialne	Zróżnicowane : wszystkie dzieci chorej kobiety będą chore, chorego mężczyzny	analiza mtDNA

Choroby dziedziczone zgodnie z prawami Mendla

“monogenic (single gene) disorders”



- **Obniżona penetracja:** nie wszystkie osoby będące nosicielami określonej mutacji wykazują ekspresję objawów w określonym czasie
- **Antycypacja:** cięższy przebieg z wcześniejszymi objawami w kolejnych pokoleniach, głównie w chorobach uwarunkowanych mutacjami dynamicznymi
- **Zróżnicowana ekspresja fenotypowa, brak korelacji fenotypowo-genotypowej**
 - mutacje tego samego genu (nawet ta sama mutacja!) - różny fenotyp
- **Heterogenność genetyczna**
 - ✓ heterogenność locus (np. różne geny – głuchota wrodzona)
 - ✓ heterogenność alleliczna (np. różne mutacje genu NF1 – podobny fenotyp)
- **Różny typ dziedziczenia mutacji tego samego genu**
- **mozaikowość germinalna / mozaikowość somatyczna**
- **specyfika tkankowa mutacji (różna ekspresja mutacji w różnych tkankach)**

Zespół CHARGE

Dziedziczenie AD

Mutacje w genie CHD7 chr. 8

Najczęściej de novo

C oloboma

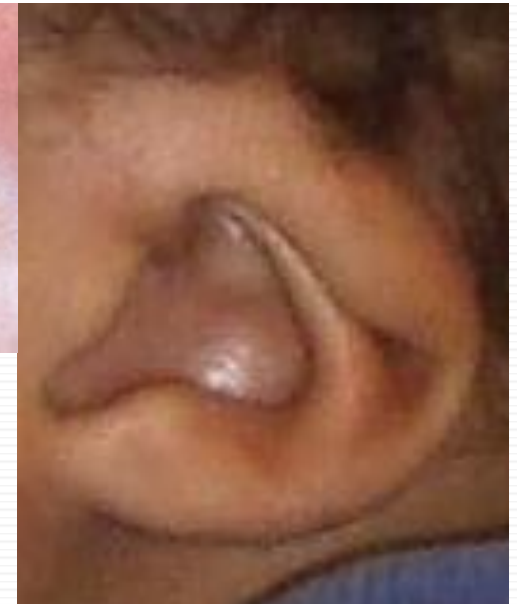
A tresia choanae

H eart anomalies

R etarded growth and
development

G enitourinary defects

E ar anomalies



Noworodek I doba życia - trudności w określeniu płci

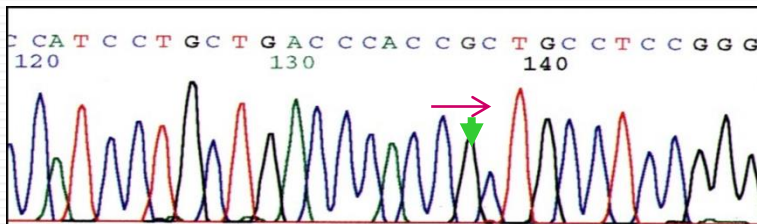
Kariotyp prenatalny: 46,XY

IUGR, hipotonia, małogłowie, rozszczep podniebienia polidaktylia pozaosiowa dłoni i stóp, syndaktylia II i III palca stóp, spodziectwo ?, obojnacze narządy płciowe ?, hipoplazja nerek, wada serca (AVSD), holoprosencefalia ?

zespół Smitha-Lemlego i Opitza (SLO) - dziedziczenie AR

↑ stężenia 7-DHC (reduktaza 7- α dehydrocholesterolu
+ niskie stężenie cholesterolu w surowicy krwi

Sekwencjonowanie genu DHCR7
(11q12-q13) met Sangera

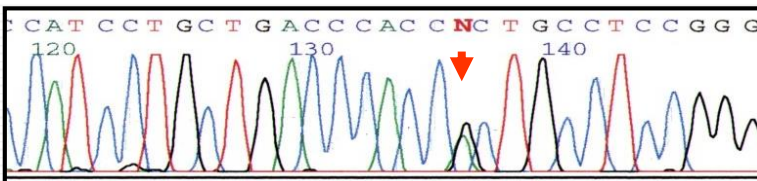


kontrola

mutacja 1327
G>A

CGC > CAC

Arg 443>His



Zespół Aperta

Zespół Crouzona

Ten sam gen różny fenotyp

Gen: *FGFR2*

Lokalizacja genu:

10q26

Produkt:
białko receptorowe



przedwczesne zarośnięcie szwów czaszkowych
(brachycefalia, trigonocefalia, oxycefalia)
niskie osadzenie uszu
hiperteloryzm
wytrzeszcz gałek ocznych (łac. *proptosis*),
hipoplazja szczęki
„gotyckie” podniebienie;
krótka górna warga
nieprawidłowości uzębienia.

4 mc życia

przedwczesne zarośnięcie szwów czaszkowych
Syndaktylia „rękawiczkowa”
hipoplazja szczęki i środkowej części twarzy.
hiperteloryzm
rozszerzenie podniebienia
niepełnosprawność intelektualna (38% chorych)

4 mc życia

Trudności diagnostyczne - przyczyny

Zmienność fenotypowa

- ✓ zmienna ekspresja kliniczna u poszczególnych chorych / w rodzinie
- ✓ niepełna penetracja (brak objawów mimo obecności mutacji) !!

✓ heterogenność genetyczna

różne mutacje tego samego genu – podobny fenotyp
ta sama mutacja - różny fenotyp

wiele genów - podobny fenotyp

geny
ETFDH,
ETFA, *ETFP*

Kwasica glutarowa
typ II

> 70 genów
jądrowych /mt

z. Leigh'a
(AR ; X-linked)

~ 14 genów
geny *PEX1*, *PEX6*
PEX10, *12*, *26*

spektrum z. Zellweger
(Adrenoleukodystrofia
noworodkowa /
niemowlęcy z. Refsuma

jeden gen – różny fenotyp

gen
CFTR
wiele
mutacji

mukowiscydoza, choroby
CFTR zależne (np.
CBAVD niepłodność,
zapalenie trzustki
zapalenie zatok
z polipowatością nosa

gen *FGFR3*

z. Crouzona
z. Muenke
Achondroplazja
Dysplazja
tanatoforyczna

Tzw. pacjent dotychczas niezdiagnozowany – perspektywy diagnostyki – koniec „odysei diagnostycznej” ?

Sekwencjonowanie następnej generacji – Next Generation Sequencing (NGS)
analiza pojedynczych par zasad („cegielek” kodu genetycznego)

Diagnostyka chorób monogenowych

Umożliwia jednoczasową analizę:

- ✓ określonego genu
- ✓ wszystkich eksonów w genomie
- ✓ całego genomu

(Whole Genome Sequencing - WGS)

- ✓ całego exomu

(Whole Exome Sequencing - WES)



W poszukiwaniu przyczyny wad wrodzonych.....

I trymestr
prawidłowy



PSN 38 tydz. ciąży; 3200g /55cm

10 pkt wg Apgar, makrocefalia, cechy dysmorfii,
(duże ciemię przednie, dysplastyczne
małżowiny)

I doba życia: nagłe pogorszenie stanu ogólnego
kwasica metaboliczna, zaburzenia oddychania
hipoglikemia, hipotonia, specyficzny słodki zapach
skóry.

wielotorbielowatość
nerek u płodu

25 tyg. ciąży

wody płodowe -norma

Wynik aCGH

prawidłowy

Diagnoza ?

Kwasica metaboliczna, zespół Zellweger
zgon w II dobie życia

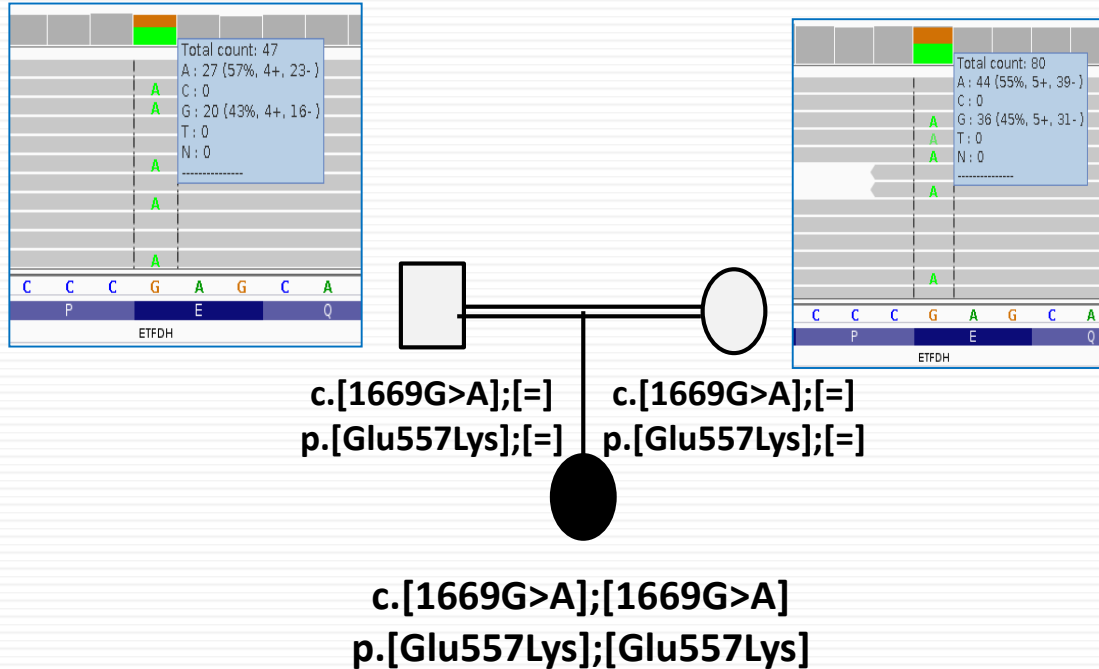
Wynik badania met. TANDEM/MS; GCMS
podejrzenie kwasicy glutarowej typu 2 (AR)

geny: ETFA, ETFB, ETFDH

rodzice spokrewnieni

W poszukiwaniu przyczyny wad wrodzonych.....

Sekwencjonowanie eksomu (WES) Agilent SureSelect Human All Exon v6 na platformie NovaSeq6000 (2x100bp Illumina)



**Homozygotyczna mutacja w
genie *ETFDH*
kwasica glutarowa typu 2**

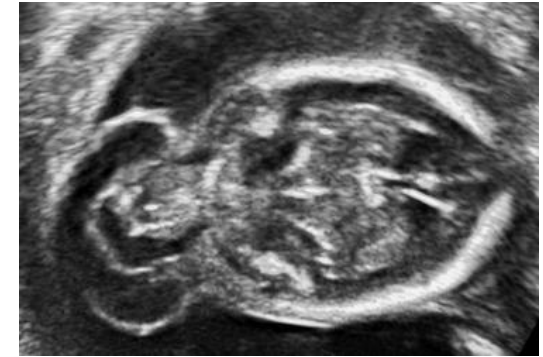
Ryzyko powtórzenia 25%

W poszukiwaniu przyczyny wad wrodzonych.....

Ciąża I, bliźniacza jednokosmówkowa

Wskazania do diagnostyki prenatalnej :

Nieprawidłowy wynik USG obu płodów w 23 tyg.



- przepuklina mózgowa okolicy potylicznej
- podejrzenie wady serca,
- hexadaktylia palców dłoni i stóp,
- podejrzenie syndaktylii palców

Amniopunkcja

Kariotyp : 46,XY

Wynik badania (aCGH)

arr (1-22)x2,(XY)x1 - prawidłowy

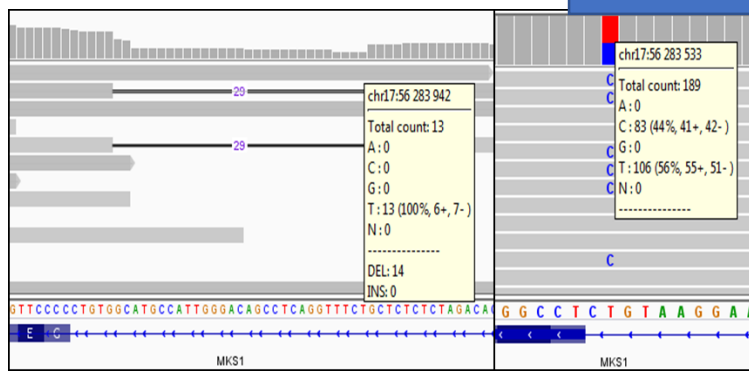
Stężenie alfa1fetoproteiny

płód I : 23152 IU/ml (norma)

płód II : 22028 IU/ml (norma)

wykluczono zespół SLO

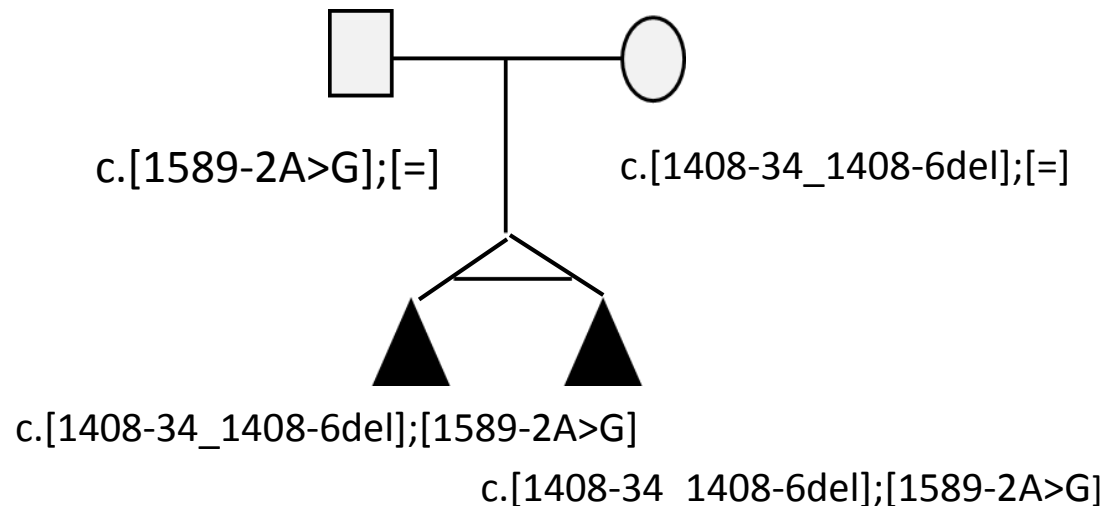
WES



**podejrzenie z. Meckela – Grubera
ale !**

➤ **10 różnych genów w etiologii zespołu !**

➤ **możliwe inne zespoły monogenowe**

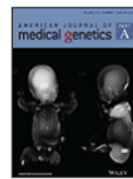


Mutacja homozygotyczna w genie MKS1

the AJMG SEQUENCE: Decoding News and Trends for the Medical Genetics Community by Deborah Levenson

Exome sequencing helps diagnose infants in the ICU

Test results changed medical management for more than half of diagnosed babies



[View issue TOC](#)
Volume 176, Issue 1
May 2015



HHS Public Access

Author manuscript

Lancet Respir Med. Author manuscript; available in PMC 2016 May 01.

Published in final edited form as:

Lancet Respir Med. 2015 May; 3(5): 377–387. doi:10.1016/S2213-2600(15)00139-3.

Whole-genome sequencing for identification of Mendelian disorders in critically ill infants: a retrospective analysis of diagnostic and clinical findings

Laurel K Willig, MD, Josh E Petrikin, MD, Laurie D Smith, MD, Carol J Saunders, PhD, Isabelle Thiffault, PhD, Neil A Miller, BA, Sarah E Soden, MD, Julie A Cakici, BSN, Suzanne M Herd, CCRC, Greyson Twist, MS, Aaron Noll, MS, Mitchell Creed, MA, Patria M Alba, MD.

Czas uzyskania wyniku WES dla pacjentów OIOM – 50 godzin !

WES / WGS umożliwia ustalenie diagnozy u około

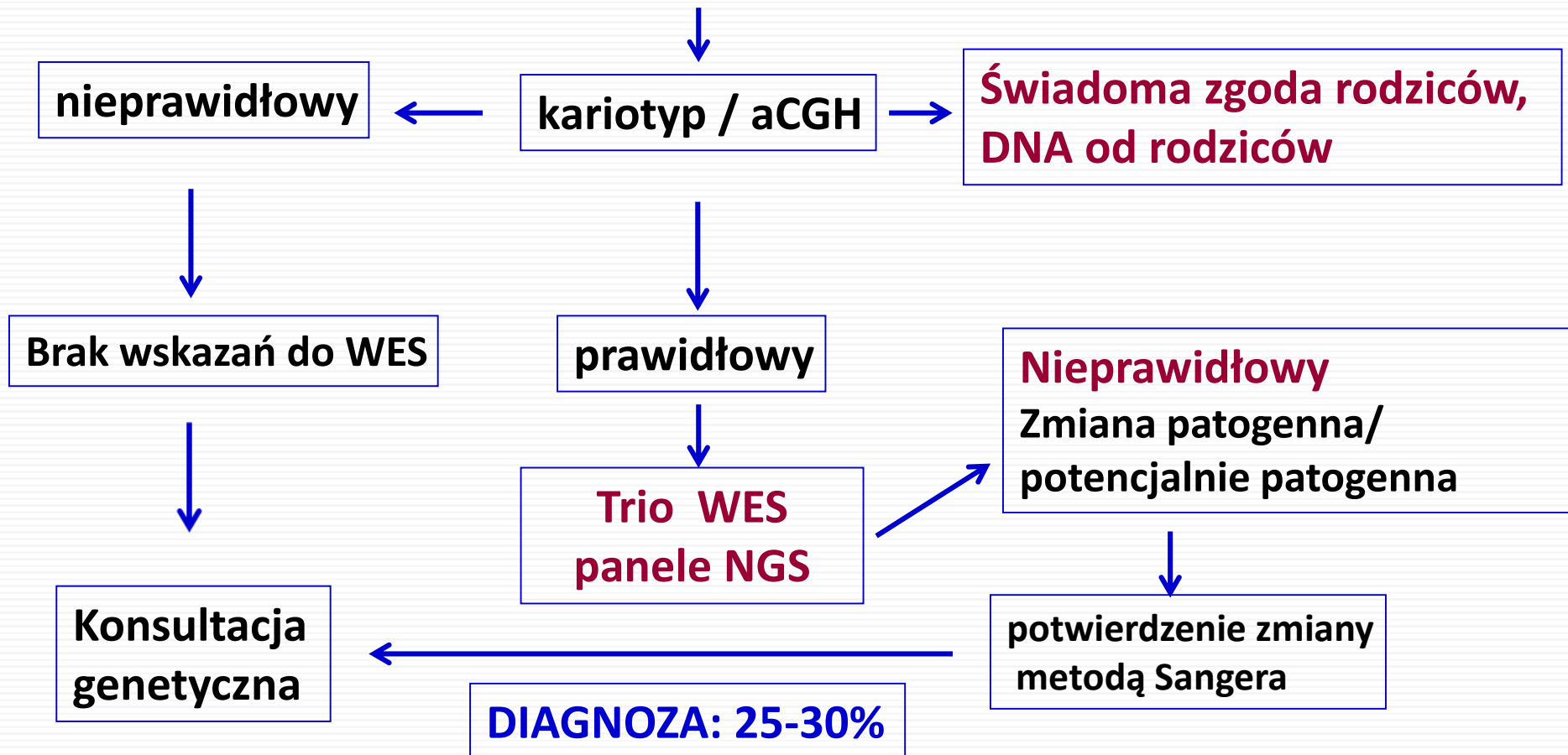
- ☐ 1/3 noworodków/niemowląt znajdujących się w oddziałach OIOM
- ☐ zmiany leczenia u ponad 50% pacjentów z podejrzeniem choroby monogenowej
- ☐ Średnio: ustalenie diagnozy u 36,7% pacjentów OIOM
- ☐ Zagrożenia życia, warunki krytyczne (np. niewydolność sercowo-płucna, niewydolność wielonarządowa)
- ☐ wysokie ryzyko letalnej choroby
- ☐ ciężka choroba narządów o nieznanej patogenezie, oporna na leczenie
- ☐ ciężkie wrodzone wady rozwojowe, które nie są znanym zespołem
- ☐ Ciężkie niewyjaśnione objawy neurologiczne, metaboliczne

Skrining metaboliczny

Menget ;2017

Znaczenie Whole Exome Sequencing (WES) w rutynowej diagnostyce wad wrodzonych/zaburzeń rozwoju

**Tzw. „pacjent dotychczas niezdiagnozowany”
Zaburzenia neurorozwojowe i/lub wady
wrodzone**



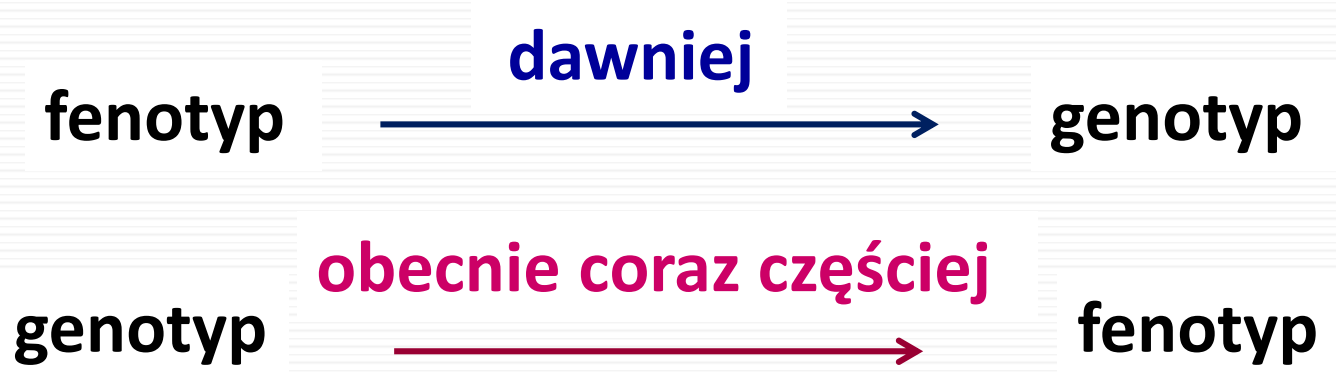
Perspektywy i wyzwania

❖ interpretacja wyniku diagnostycznego !

Genetic counseling - genomic counseling

Terapia genowa

Medycyna spersonalizowana



Warunkiem udzielenia wiarygodnej porady genetycznej jest:

- **prawidłowe rozpoznanie choroby** na podstawie:
 - badania przedmiotowego / oceny cech klinicznych
 - oceny wyników badań diagnostycznych: enzymatycznych, --
biochemicznych, radiologicznych, obrazowych (MRI, usg,
dokumentacji fotograficznej, oceny antropologicznej
 - oceny konsultacji odpowiednich specjalistów
- **znajomość etiologii choroby**
- **znajomość sposobu dziedziczenia choroby**
- **umiejętność oceny ryzyka genetycznego**
- **znajomość metod profilaktyki pierwotnej / wtórnej choroby**

Zasady poradnictwa genetycznego

Jeśli ustalono diagnozę choroby:

- ❖ możliwa prognoza co do dalszego przebiegu choroby
- ❖ informacja o możliwościach terapeutycznych (np. SMA, niektóre MPS, ch. Gauchera, Fabry)

konieczne poradnictwo genetyczne

- dla rodziców probanda - oszacowanie ryzyka genetycznego
- dla krewnych probanda - oszacowanie ryzyka genetycznego
- ❖ omówienie metod profilaktyki prekonceptyjnej
- kw. foliowy, alkohol, nikotyna, leki, narkotyki, kontrola cukrzycy,
- ❖ omówienie metod profilaktyki prenatalnej (w tym preimplantacyjnej)
- ❖ wsparcie psychologiczne, grupy wsparcia (stowarzyszenia, fundacje)

Jeśli nie ustalono diagnozy choroby: (obecnie ~50% przypadków)

- ❖ dalsza kontrolą „follow up”
- ❖ wsparcie psychologiczne
- ❖ aktualizacja możliwości i perspektyw diagnostyki w przyszłości

„... Lekarz ma obowiązek zapoznać pacjentów z
możliwościami współczesnej genetyki lekarskiej, a także
diagnostyki i terapii przedurodzeniowej...”

Kodeks Etyki Lekarskiej, art. 38 p. 3; 2003

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ !

ewa.oberosztyn@imid.med.pl