

Ultrazvuková diagnostika genetických syndromů

Centrum prenatální diagnostiky Brno
Cytogenetická laboratoř Brno

Vlašín P., Tauberová I., Grochová I.,
Kadlecová J., Grochová D., Durcová L., Dobšáková Z.

**43. celostátní konference Sekce ultrazvukové
diagnostiky ČGPS ČLS JEP**

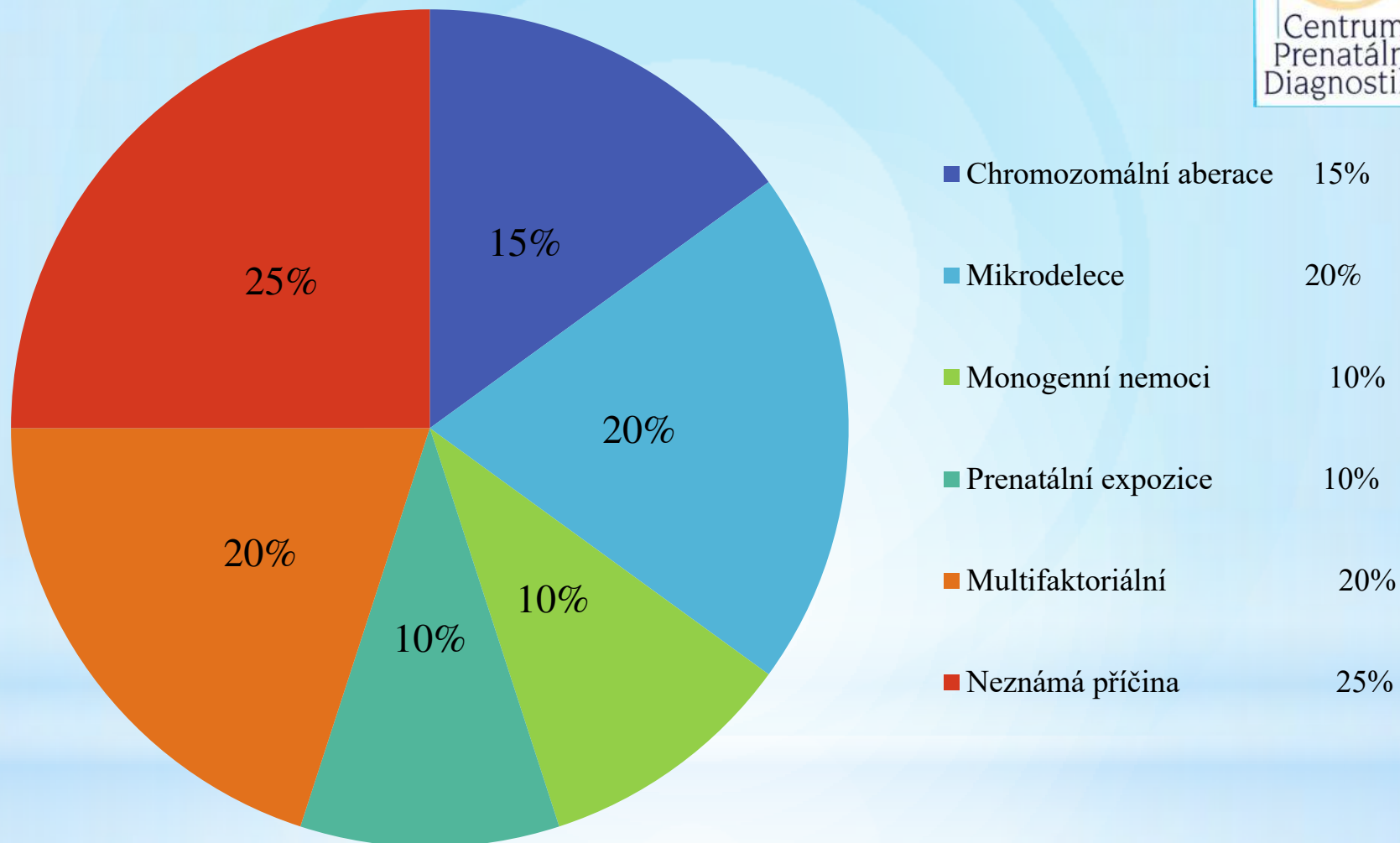
8.10.2023 Brno

V současné době lze některé problémy spojené s vývojem plodu diagnostikovat již při ultrazvukovém screeningu během těhotenství.

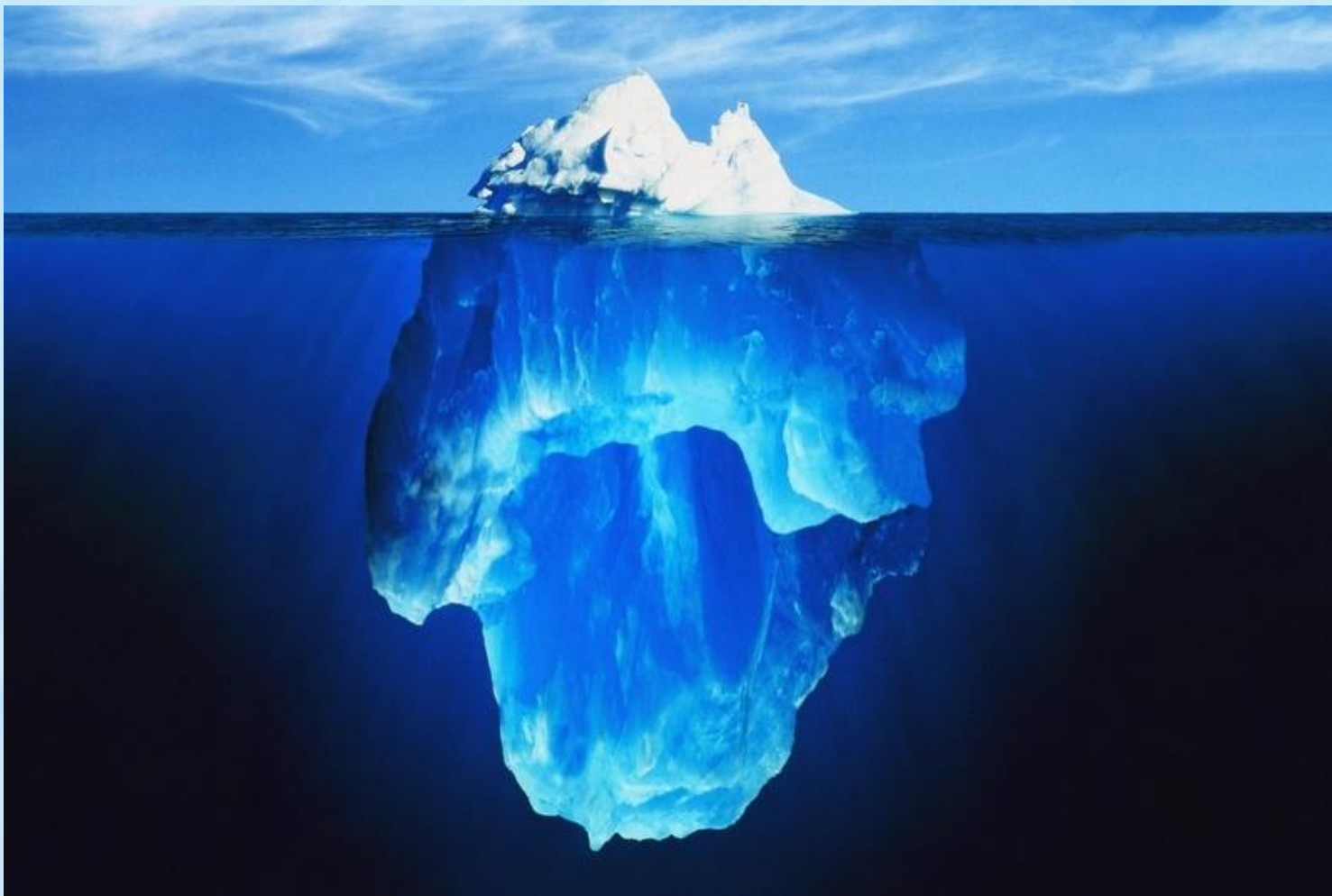
Spolu s rodiči se snažíme najít odpověď na otázky:

- Proč k tomu došlo, jaká byla příčina ?
- Jaké to bude mít následky pro dítě po porodu ?
- Jaké je riziko opakování ? Budu mít ještě zdravé dítě ?
- Lze tomu předejít ?

Příčiny vrozených vývojových vad



Z grafu vyplývá, že chromozomální aberace jsou příčinou jen malé části vrozených vývojových vad, další příčiny nám v současnosti většinou unikají.



OMIM

An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders



OMIM Morbid Map Scorecard (Updated August 4th, 2023) :

Total number of phenotypes* for which the molecular basis is known	7,407
Total number of genes with phenotype-causing mutation	4,827

Distribution of Phenotypes across Genes (Updated August 4th, 2023) :

Number of genes with 1 phenotype	3,391
Number of genes with 2 phenotypes	870
Number of genes with 3 phenotypes	311
Number of genes with 4+ phenotypes	255

Nejúplnější katalog genetický v současnosti zahrnuje více jak 7 400 genetických onemocnění a jejich počet se neustále zvyšuje. Tato onemocnění se označují jako vzácná a jejich frekvence v běžné populaci je nižší jak 1:2 000– 100 000.

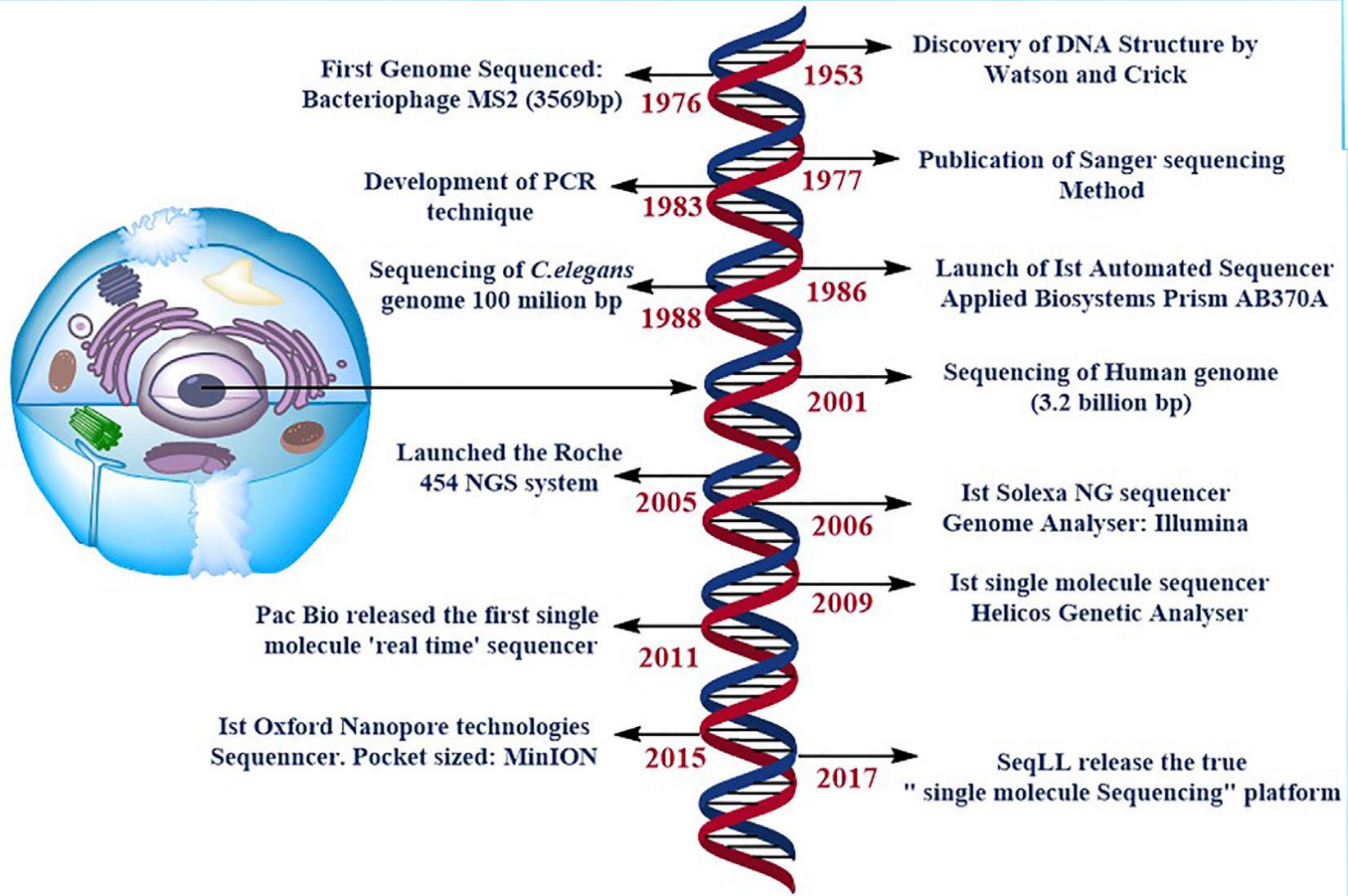


FIGURE specifies the timeline of DNA sequencing. Some of the most significant and ground-breaking developments in DNA sequencing.

Prenatální diagnostika – možnosti laboratorní diagnostiky



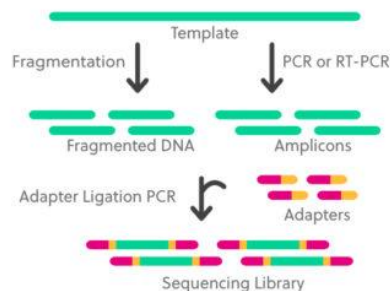
- **Karyotyp**
- **CNV - arrayCGH**
- **bodové mutace**
- **panely genů pro specifické fenotypové skupiny**
 - např. vrozené srdeční vady, RASopatie, skeletální vady.....
- **Heredity panel** (klinický exom 3332 genů)
- **WES** –(whole exome sequencing) analyza kompletně celého souboru kódujících genů

Next generation sequencing

STEP 1: Extraction



STEP 2: Library Prep



STEP 3: Sequencing

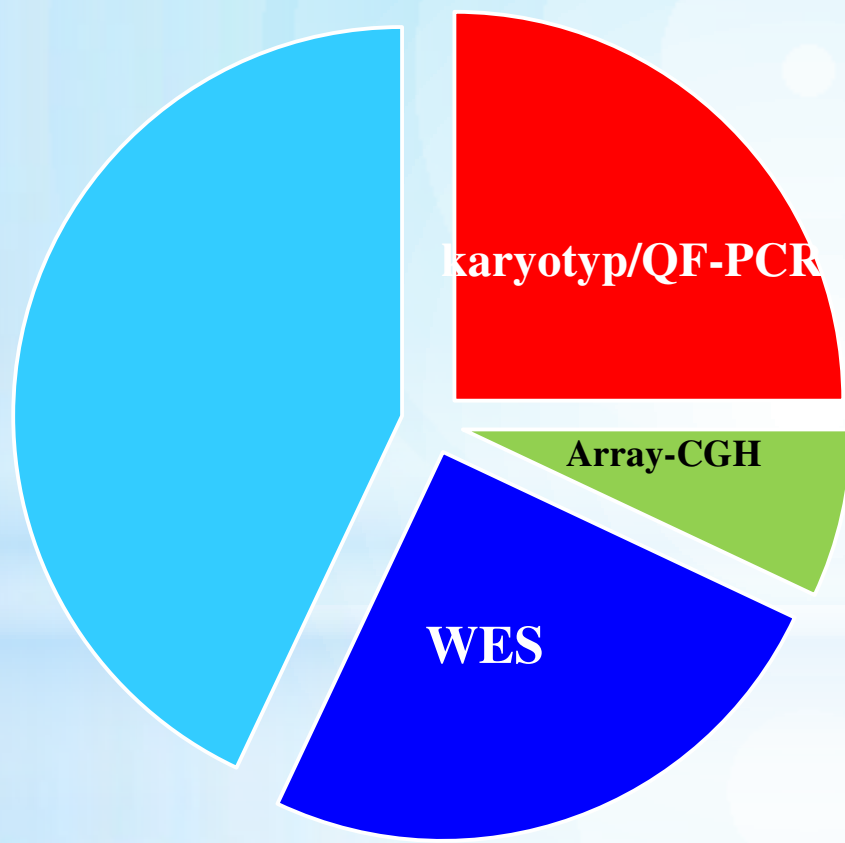


STEP 4: Analysis



Tato nová technologie umožňuje analyzovat tisíce až miliony molekul DNA současně.

Diagnostická výtěžnost jednotlivých metod



- Trisomie**
- Turnerův syndrom**
- Triploidie**
- další aneuploidie**
- nebalancované přestavby (5-10 Mb)**
- Mikrodelece a mikroduplikace (10 kb)**
- UPD, AOH**
- Monogenní nemoci**

WES – celoexomové sekvenování



Human Molecular Genetics, 2014, Vol. 23, No. 12 3269–3277
doi:10.1093/hmg/ddu038
Advance Access published on January 29, 2014

Exome sequencing improves genetic diagnosis of structural fetal abnormalities revealed by ultrasound

Keren J. Carss¹, Sarah C. Hillman², Vijaya Parthiban¹, Dominic J. McMullan³, Eamonn R. Maher², Mark D. Kilby^{2,4,*} and Matthew E. Hurler¹

DOI: 10.1002/pd.4675

PRENATAL DIAGNOSIS

ORIGINAL ARTICLE

Exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic abnormalities

Suzanne Drury¹, Hywel Williams², Natalie Trump¹, Christopher Boustred¹, GOSGene², Nicholas Lench¹, Richard H. Scott¹ and Lyn S. Chitty^{1,2,*}

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

BRIEF REPORT

Clinical Diagnosis by Whole-Genome Sequencing of a Prenatal Sample

Michael E. Talkowski, Ph.D., Zehra Ordulu, M.D., Vamsee Pillalamarri, M.S., Carol B. Benson, M.D., Ian Blumenthal, B.E., Susan Connolly, M.D., Carrie Hanscom, M.S., Naveed Hussain, M.D., Shahrin Pereira, B.S., Jonathan Picker, M.B., Ch.B., Ph.D., Jill A. Rosenfeld, M.S., Lisa G. Shaffer, Ph.D., Louise E. Wilkins-Haug, M.D., James F. Gusella, Ph.D., and Cynthia C. Morton, Ph.D.

© American College of Medical Genetics and Genomics

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Genetics
inMedicine

Prenatal exome sequencing in anomalous fetuses: new opportunities and challenges

Neeta L. Vora, MD¹, Bradford Powell, MD, PhD², Alicia Brandt, MS², Natasha Strande, PhD^{3,4}, Emily Hardisty, MS, CGC¹, Kelly Gilmore, MS, CGC¹, Ann Katherine M. Foreman, MS, CGC^{2,5}, Kirk Wilhelmsen, MD, PhD⁶, Chris Bizon, PhD⁶, Jason Reilly, BA⁶, Phil Owen, BS⁶, Cynthia M. Powell, MD, MS^{2,7}, Debra Skinner, PhD, MA⁸, Christine Rini, PhD⁹, Anne D. Lyerly, MD, MA¹⁰, Kim A. Boggess, MD¹, Karen Weck, MD^{3,4}, Jonathan S. Berg, MD, PhD² and James P. Evans, MD, PhD^{2,10}

Nárůst diagnostické výtěžnosti až o 25%

Ultrazvuk

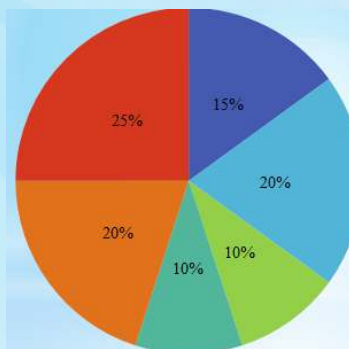
Stigmatizovaný plod

- **nález VVV nezapadající do obrazu nejčastějších chromozomálních aberací**
- **dva i více drobných nálezů**
- **diskrepance v biometrii**

Jaká bude kvalita života ?

Jedná se o izolovaný nález? – součást genetického syndromu ?

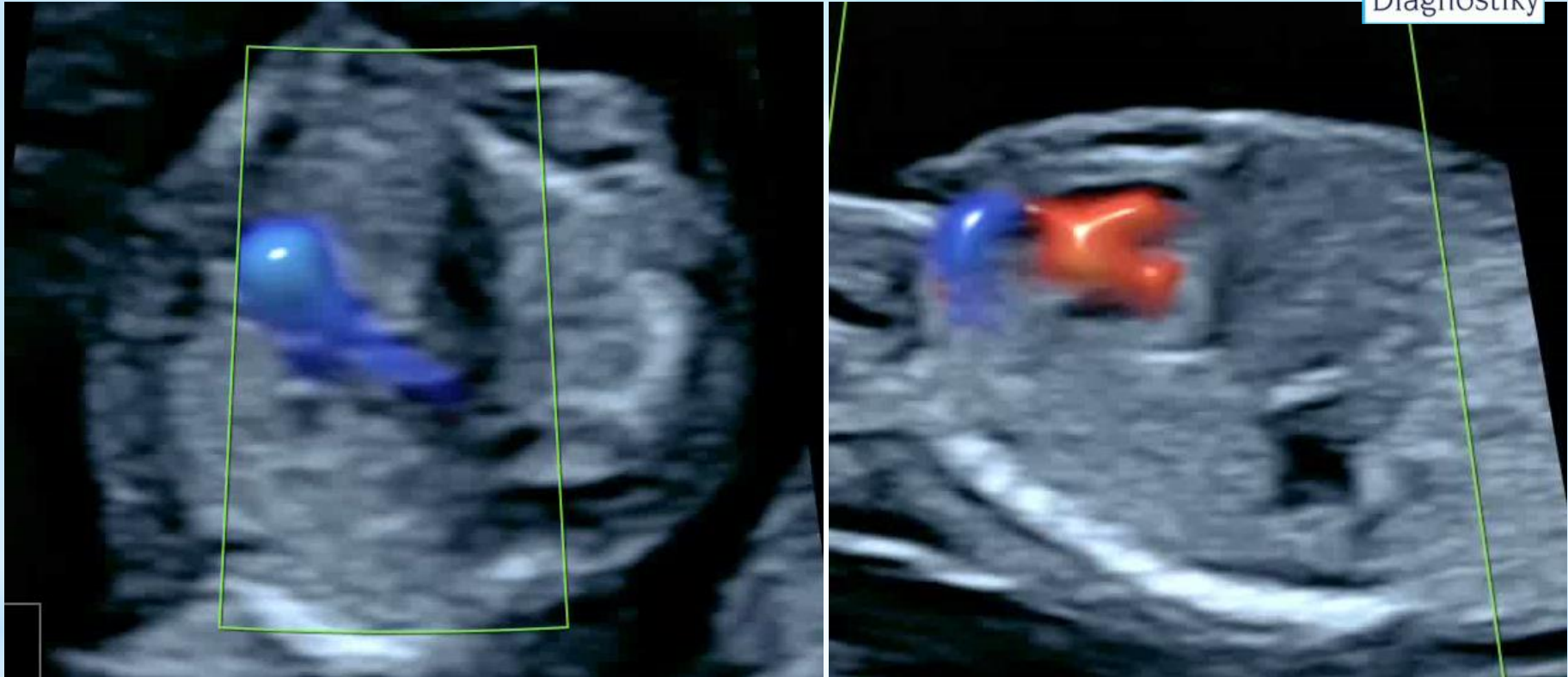
Ultrazvukový nález doplňujeme v indikovaných případech genetickým vyšetřením plodu



Problémy uz diagnostiky = indikace vyšetření

- nespecifické – obtížná konzultace -
- příznak syndromu ??? Nebo varianta normy ?
- příznaky se vyvíjí později, nejsou ev. diagnostikovatelné uz
- nelze zařadit syndromologicky – většinou
- Frekvence 1: 2 000 – 1: 100 000

VCC a co ještě ??



Srdeční vada v rámci 1. screeningu v těhotenství – zřetelně se plní jen 1 velká tepna.
Současně se nedaří zobrazit thymus plodu

VCC + agenese thymu = Di Georgův syndrom

Mikrodelece 22 chromosomu

Diagnosa:

MLPA - (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)

UZ 2. screening - atypický náález



Atypický tvar obličeje, atypické držení prstů,
Hypoplasie corpus callosum

Karyotyp plodu - mužský karyotyp s terminální delecí dlouhého raménka chromozomu 14



Delece velikosti ~9,01 Mb v heterozygotním stavu.

Deletovaná oblast zahrnovala >400 genů, z toho je 25 genů "disease-associated"

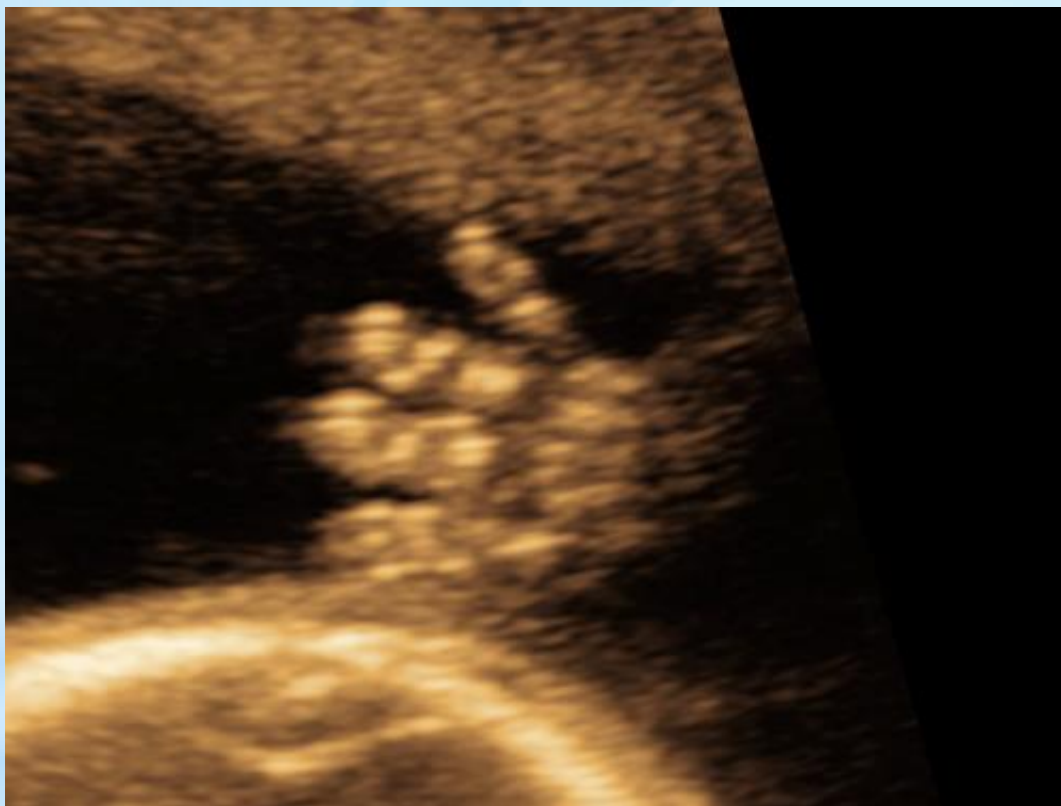
V databázi Decipher, nejčastějšími projevy jsou:

- intelektuální nedostatečnost,
- hypotonie,
- **faciální malformace,**
- **abnormality končetin.**

Diagnosa:

Array CGH – komparativní genomová hybridizace

Kratší prsty ??



Některé známky abnormálního vývoje plodu jsou velmi nenápadné

U plodu mužský karyotyp se
získem genetického materiálu chromosomu X o velikosti ~ 26,5 Mb.

ATR-X syndromem OMIM 301040 .

- **.brachydaktylie,**
- hypogonadismus,
- .- kraniofaciální abnormality.
- mentální retardace , autismus

Diagnosa:

Array CGH – komparativní genomová hybridizace

Kluk nebo holka ??



V 16. týdnu těhotenství je genitál plodu plně diferencován a při uz vyšetření je stanovení pohlaví již většinou zcela jednoznačné.

Mužský karyotyp

Delece chromozomu 13 v oblasti 13q32.3q34 ~ 14,3 Mb

Deletovaná oblast zahrnuje téměř 150 genů,
Zahrnuje **13q33q34 deleční syndrom** (OMIM 619148,
AD dědičnost)

- nízký vzrůst,
- kardiovaskulární a skeletální projevy,
- mentální retardace, mikrocefalie, faciální dysmorfismus
- u mužského pohlaví **malformace genitálu (hypospadié)**.

Diagnosa:

Array CGH – komparativní genomová hybridizace

Nejpravděpodobnější diagnosa???



Abnormální profil obličeje, hypoplasie nosní kosti,
Stehenní kost tvar telefonního sluchátka, hypoplasie okcipitálních laloků mozku

Thanatoforní kostní dysplazie

mutace c.742>T v genu FGFR3

Incidence 1: 60 000

Diagnosa:

Sangerova sekvenace pořadí nukleotidů ve specifickém genu

S1 Mnohočetné vývojové vady - jaké zvolit za vyšetření ??



U plodu encephalokele, polycystické ledviny

Meckel Gruber syndrom – ciliopathie



Panel : 13 genů:

*B9D1, B9D2, CC2D2A, CEP290, MKS1, RPGRIP1L,
TCTN2, TCTN3, TMEM67, TMEM107, TMEM216,
TMEM231 and TMEM237.*

Gen TCTN3

Varianta u rodičů v heterozygotním stavu

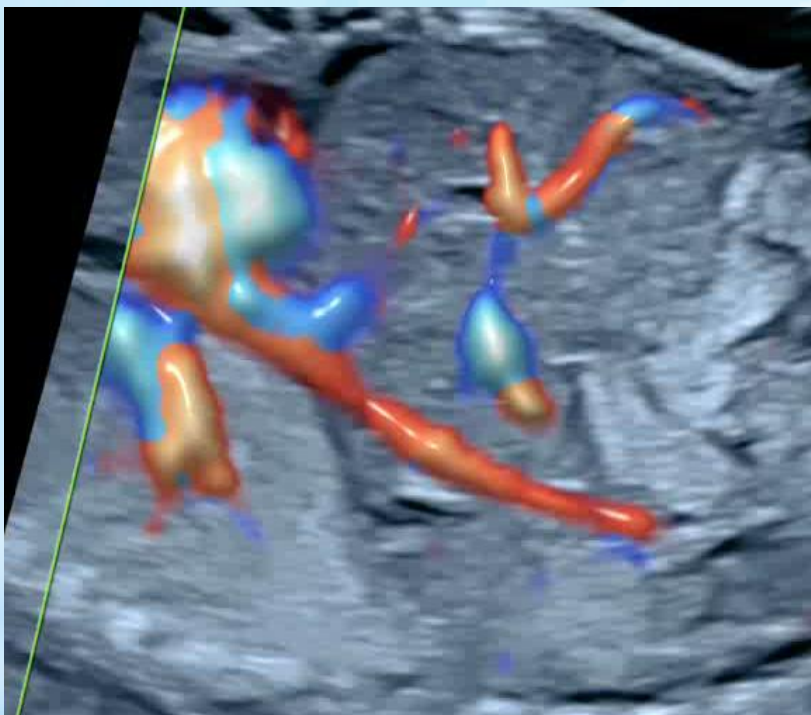
Dědičnost AR – riziko opakování 25%

Frekvence 1:10 000 – 140 000

S2 Hemodynamicky závažná arytmie ???

NT+ 1:1600

Agenese ductus venosus



U plodu agenese ductus venosus, „
Extrasystoly, hypertrofiie myokardu, perikardiální výpotek

Kardiopanel - 225 genů

myopatie, srdeční arytmie, vrozené srdeční vady

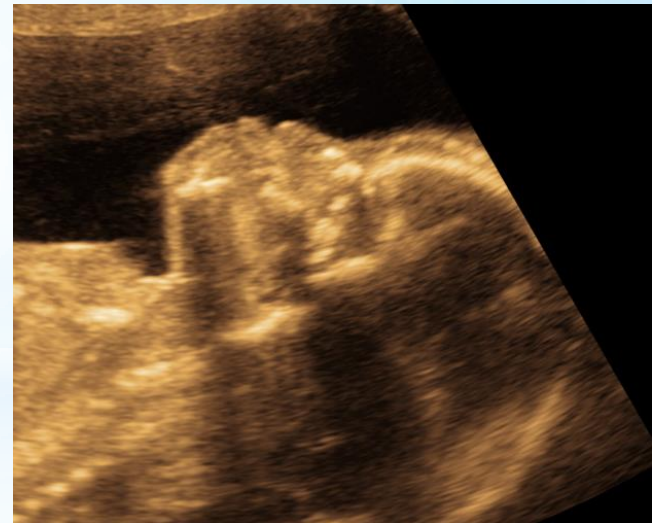
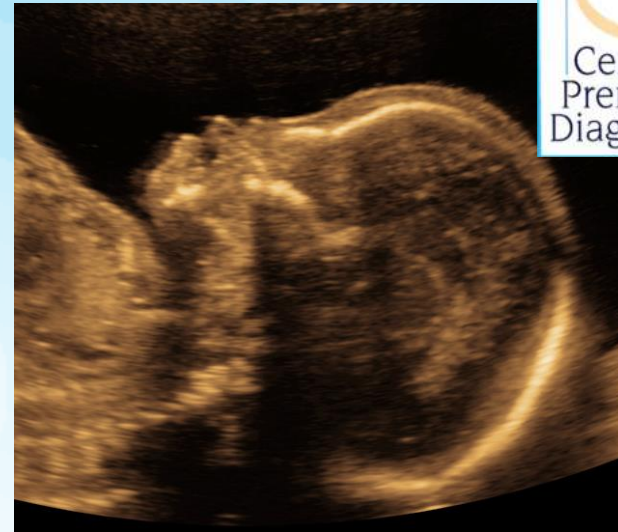
Mutace c.1216G>A(p.Gly406Arg) v genu CACNA1C
v heterozygotním stavu. .

Timothy syndrom, LQT syndrom a Brugada syndrom

- srdeční arytmie s rizikem náhlé smrti
- neuropsychiatrická onemocnění

Popsáno 100 případů v literatuře.

S2 – to dítě má menší nos??



ZSWIM6 (Zinc Finger SWIM-Type) is a Protein Coding gene.

Diseases associated with ZSWIM6 include

- **Acromelic Frontonasal Dysostosis**
- **Neurodevelopmental Disorder with Movement Abnormalities**
- **Autisistic Features**

Diagnosa:

WES - klinický exom

S1 - Kolik má prstů ???

NT+ 1: 2100



NGS sekvenční varianta mutace v genu *GLI3*

Pallister-Hall syndromem

s AD dědičností

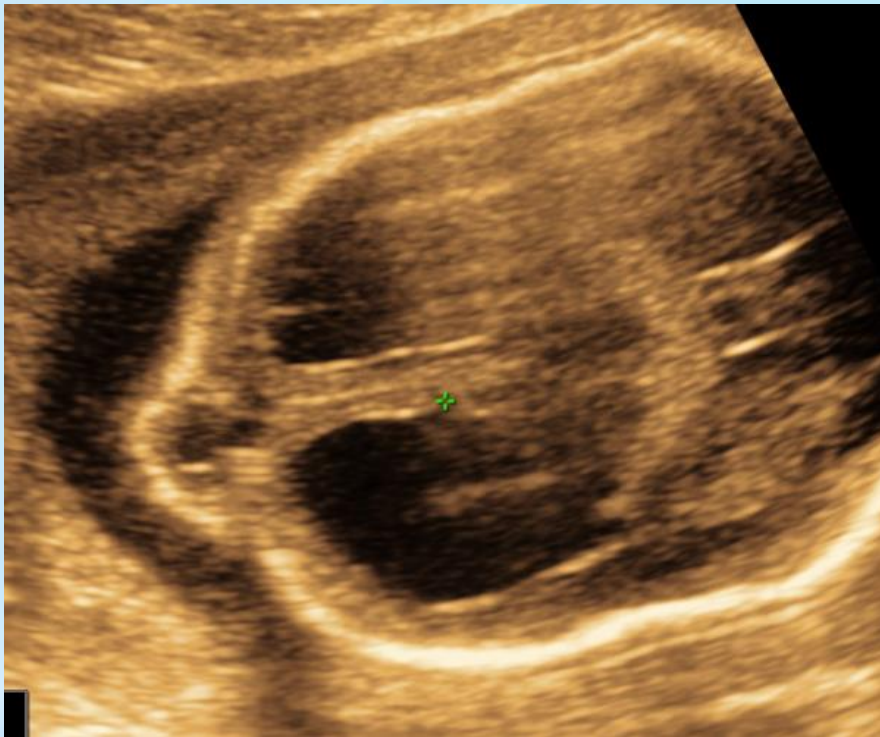
- **polydaktylie,**
- **oligodaktylie**

- asymptomatické bifidní epiglottis ,
- hypotalamický hamartom
- laryngotracheální rozštěp
- urogenitální anomálie, imperforovaný anus,

Diagnosa:

WES - klinický exom

Abnormální vývoj mozku



U plodu drobná meningocele v oblasti sagitálního švu +
ventrikulomegalie – dilatace mozkových komor

TRIO analýzou detekována varianta :

NM_001077365.2:c.1243_1244del(p.Ser415HisfsTer17) v genu *POMT1*
(OMIM * 607423) v homozygotním stavu.

Oba rodiče jsou přenašeči nalezené varianty.

Jedná se o delecii dvou nukleotidů, která vede k posunu čtecího rámce,

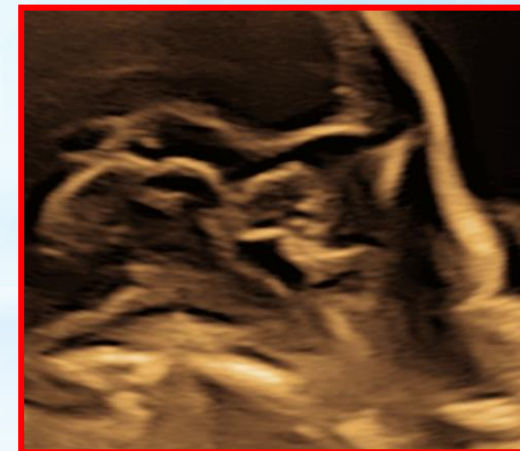
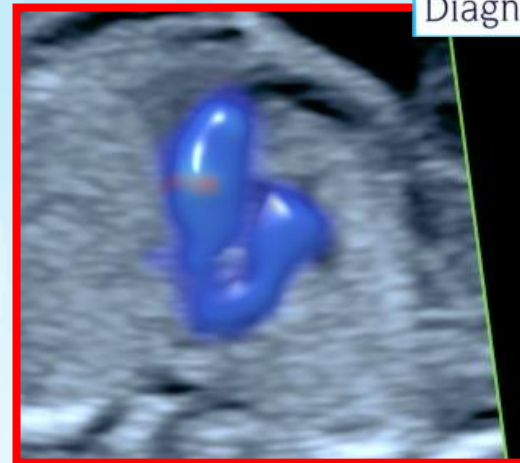
Varianty v genu *POMT1* jsou asociovány s vývojem:

Muscular dystrophy-dystroglycanopathy
(congenital with brain and eye anomalies),

Diagnosa:

WES - klinický exom

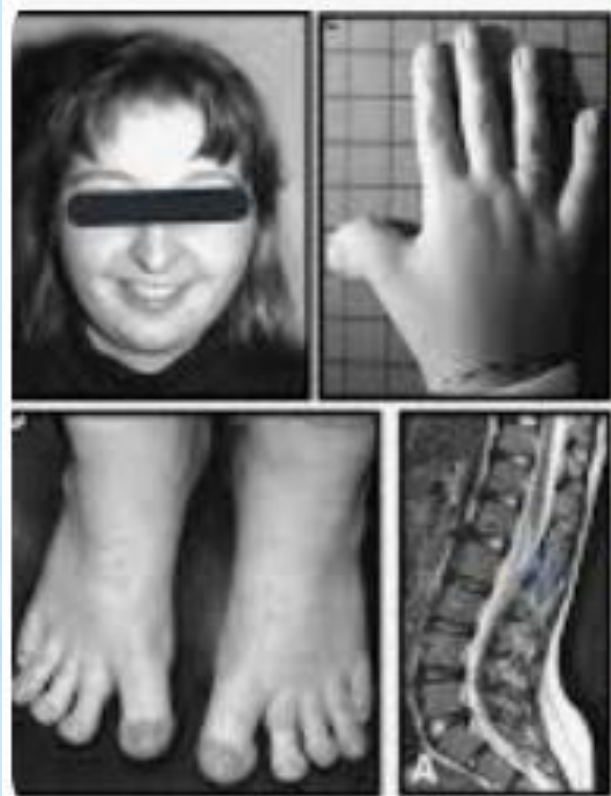
Neúplná exprese onemocnění



Varianta de novo u plodu v genu **CREBBP**.

Varianta, která je popisována jako potenciálně patogenní pro **syndrom Rubinsten - Taybi**, tj. **syndrom širokých palců**, který má autosomálně dominantní typ dědičnosti.

Frekvence 1: 125 000



Typické znaky

- Široké palce HK, DK
- Zobákovitý nos
- Mikrocephalie
- PMR
- VCC
- Dysplasie cerebella
-

Diagnosa:
WES - klinický exom

Rubinstein-Taybi syndrome

Other Names: Broad thumb-hallux syndrome; Broad thumbs-halluces syndrome



Body Systems

Symptoms related to this disease may affect different systems of the body. Use the 'Filter and Sort' function to learn more about which body system(s) are affected by this disease and their associated symptom(s).

Medical Term ↑	Description and Synonyms	Frequency ↓
Telecanthus	<p>Distance between the inner canthi more than two standard deviations above the mean (objective); or, apparently increased distance between the inner canthi.</p> <p>Synonyms: Corners of eye widely separated; Dystopia canthorum; Increased distance between medial canthi; Increased intercanthal distance</p>	<p>Frequency</p> <p>Uncommon <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Always</p> <p>Very frequent</p>
Short stature	<p>A height below that which is expected according to age and gender norms. Although there is no universally accepted definition of short stature, many refer to "short stature" as height more than 2 standard deviations below the mean for age and gender (or below the 3rd percentile for age and gender dependent norms).</p> <p>Synonyms: Decreased body height; Height less than 3rd percentile; Short stature; Small stature; Stature below 3rd percentile</p>	<p>Frequency</p> <p>Uncommon <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Always</p> <p>Very frequent</p>
Low-set ears	<p>Upper insertion of the ear to the scalp below an imaginary horizontal line drawn between the inner canthi of the eye and extending posteriorly to the ear.</p> <p>Synonyms: Low set ears; Low-set ears; Low-set pinnae; Lowset ears; Melotia</p>	<p>Frequency</p> <p>Uncommon <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Always</p> <p>Very frequent</p>



U plodu nemusí být všechny známky typické pro jednotlivé syndromy vyjádřeny, nebo se mohou projevit později až v průběhu vývoje.

Problém – objem dat - vyhodnocení , uložení

	objem dat	zpracování
NIPT Trisomy	0,6 GB	týden
arrayCGH	100 MB	10 dnů
Panel NGS		4 týdny
Klinický exom	2,0 GB	2-3 týdny
WES	6-12 GB	
WGS	Více jak 100 GB	

V současné době jsme schopni zkrátit dobu kompletního vyšetření plodu na 2-3 týdny

Mezioborová spolupráce



- **UZ nález -- molekulární genetika – klinický genetik**
- **Klinická korelace** (co nejpodrobnější popis fenotypu / prenatální)
 - Asociace varianty s fenotypem plodu?
 - Reportovat jen patogenní / pravděpodobně patogenní varianty – relevantní k indikaci
 - VOUS? Sekundární / Nevyžádané nálezy?
 - TRIO analýza
 - Klinická informace u rodičů – často nejsou k dispozici žádné informace

Stanovení správné diagnózy a prognózy vyžaduje kompletní tým úzce spolupracujících kvalifikovaných odborníků



Děkuji za pozornost