



„Gen prawdę Ci powie” czyli co można wyczytać z badań genetycznych dla chorób marfanoidalnych?

Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska
Centrum Medyczne MEDGEN
Poradnia Genetyczna
Poradnia Dietetyczna
Pracownia Diagnostyki Genetycznej



SKALA PROBLEMU...

46 chromosomów: 46 XX lub 46XY

Wielkość genomu człowieka	2x 3 mld nukleotydów
Długość DNA z jednej komórki ludzkiej	2m
Długość DNA z jednej komórki zapisanego w postaci sekwencji nukleotydowej ATGC (rozmiar czcionki: 8)	7,5 tys. km
Liczba genów człowieka	23 tys.
Liczba chorób o podłożu genetycznym (w-g OMIM)	6-7 tys.



Jedynie 1.5% genomu zawiera informacje o białkach, reszta to geny kodujące RNA, sekwencje regulatorowe, introny, „śmieciowy” DNA.

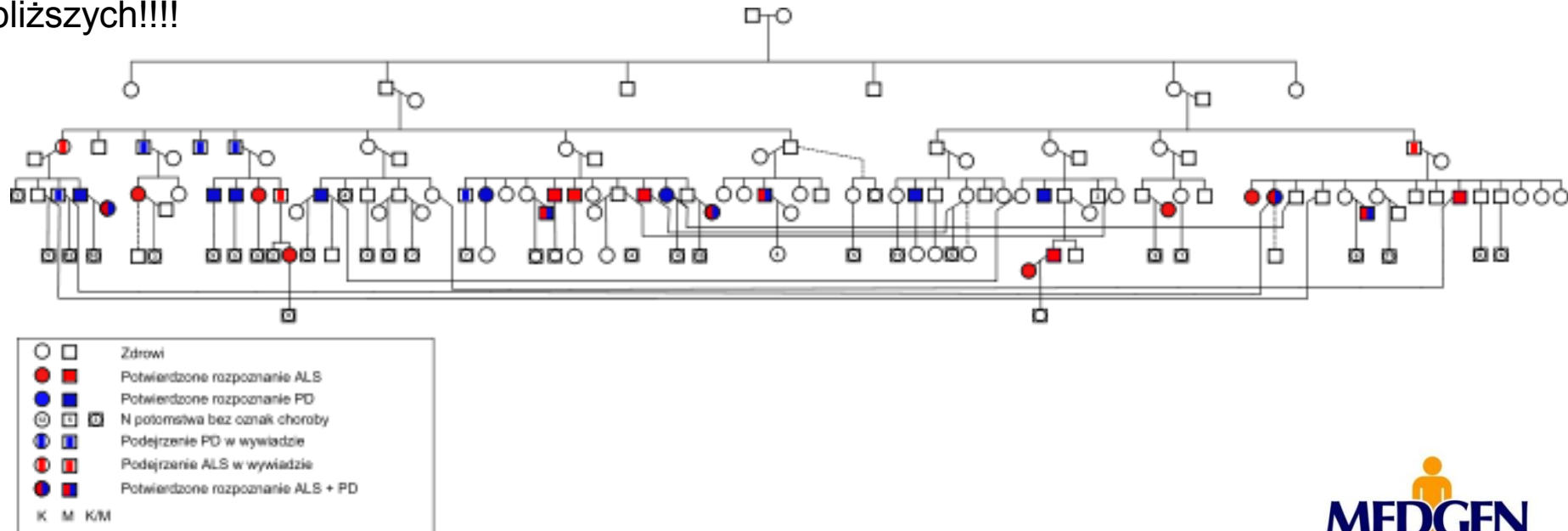
SKALA PROBLEMU...



Sumaryczna liczba wszystkich chorych na choroby genetyczne świadczy o randze problemu społecznego: w Europie na choroby genetyczne choruje przeszło **30 milionów** ludzi.

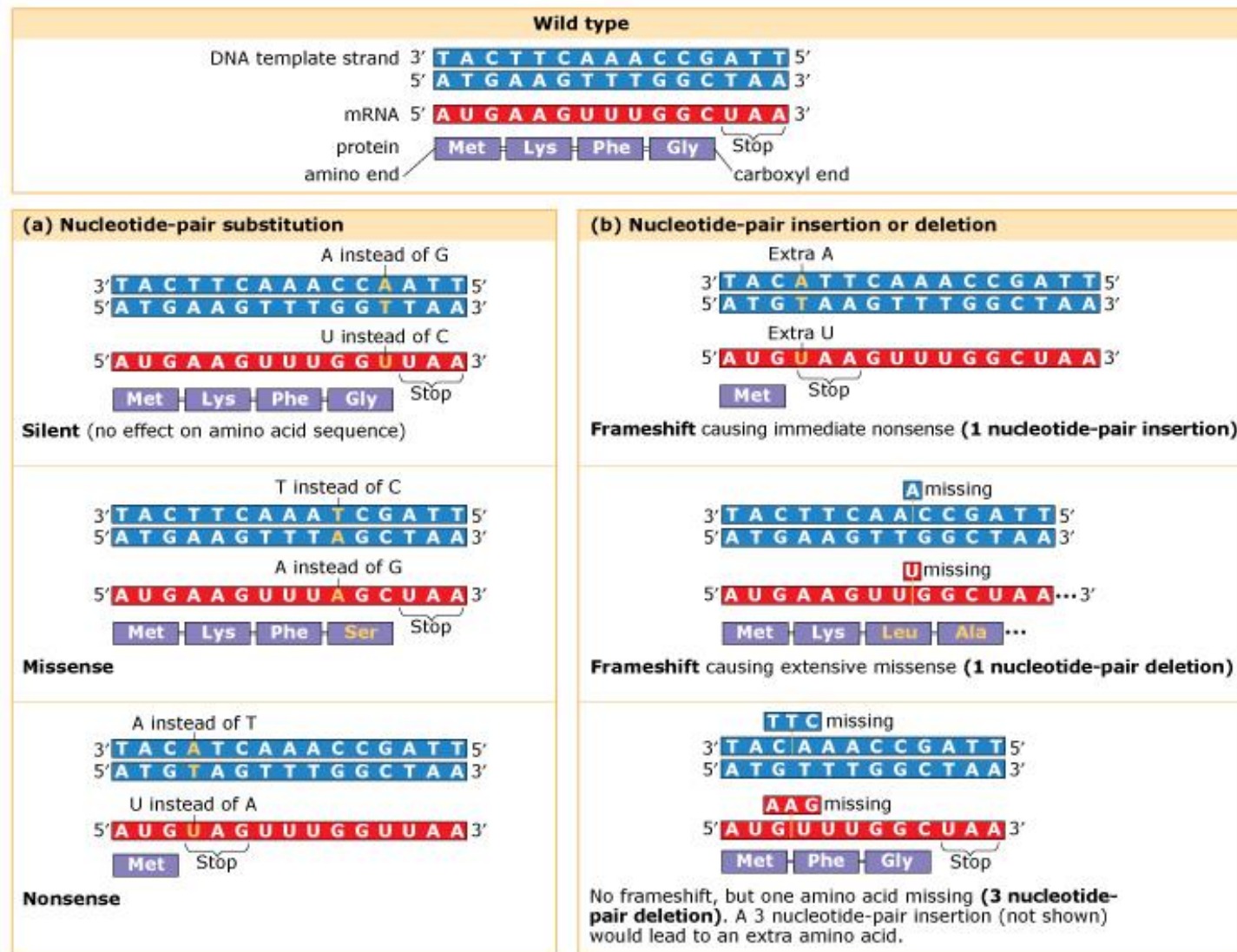
W Polsce na choroby genetyczne cierpi od 1,3 do 2,6 miliona pacjentów.

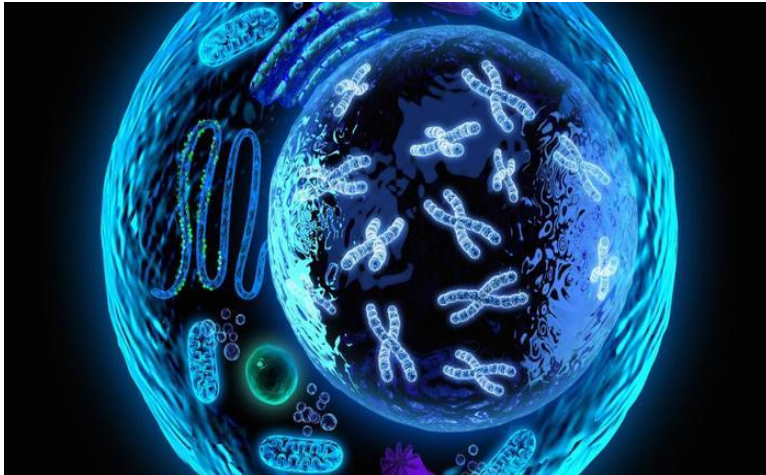
Choroba genetyczna nie dotyczy tylko pacjenta, ale **także** członków jego rodziny- dalszych i bliższych!!!!



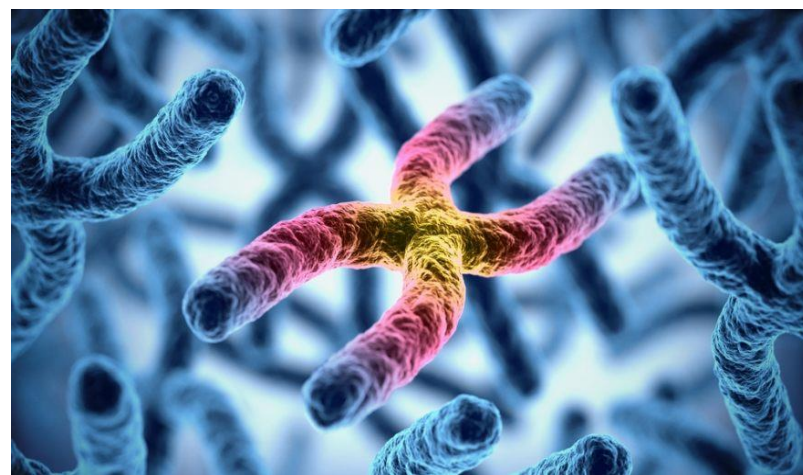
MUTACJA

Zmiana w sekwencji DNA

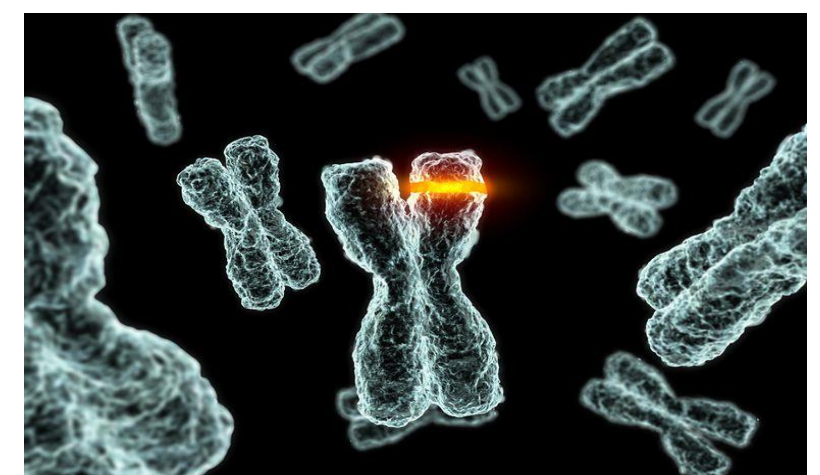




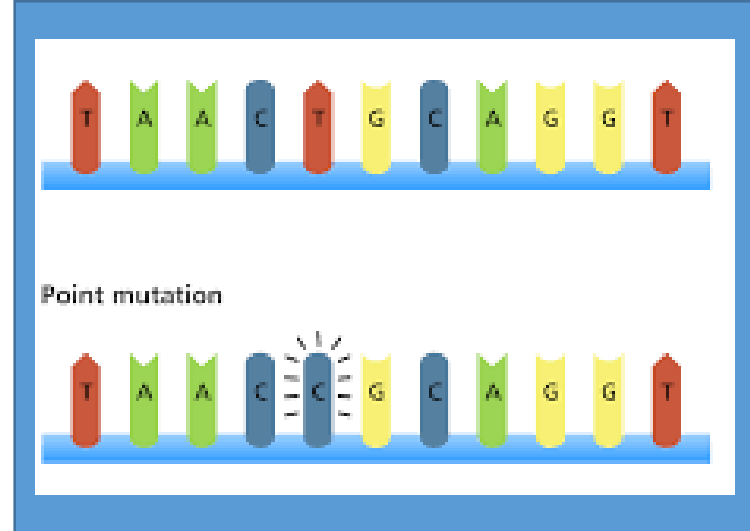
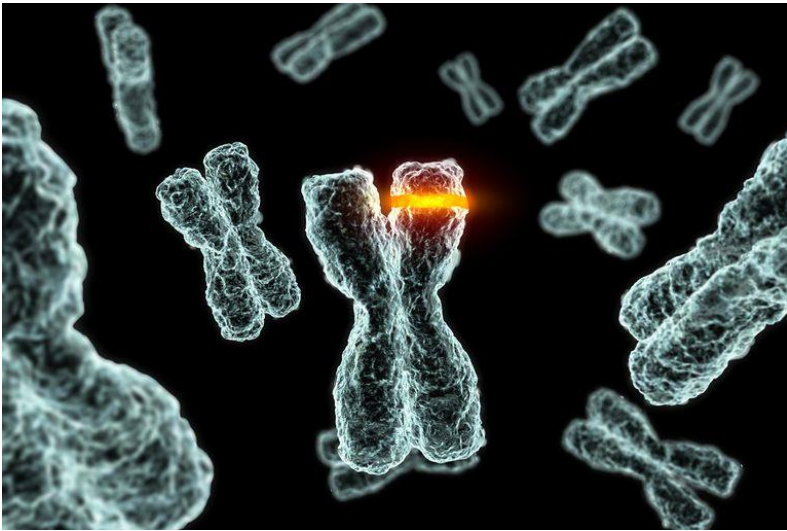
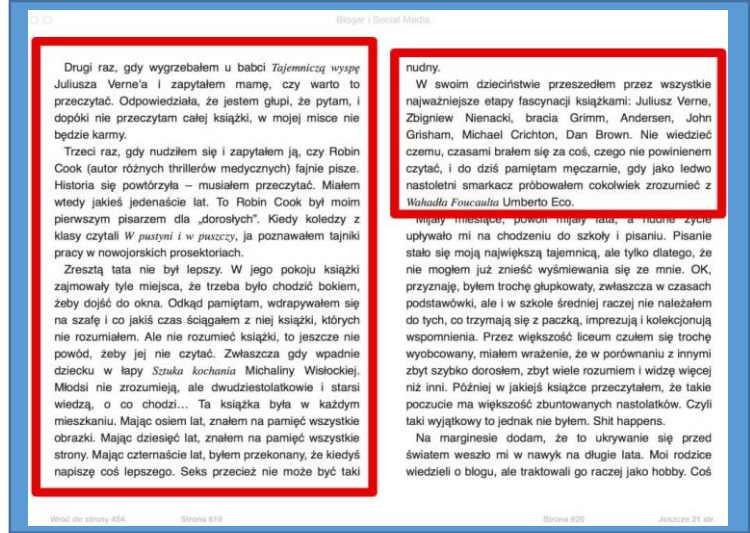
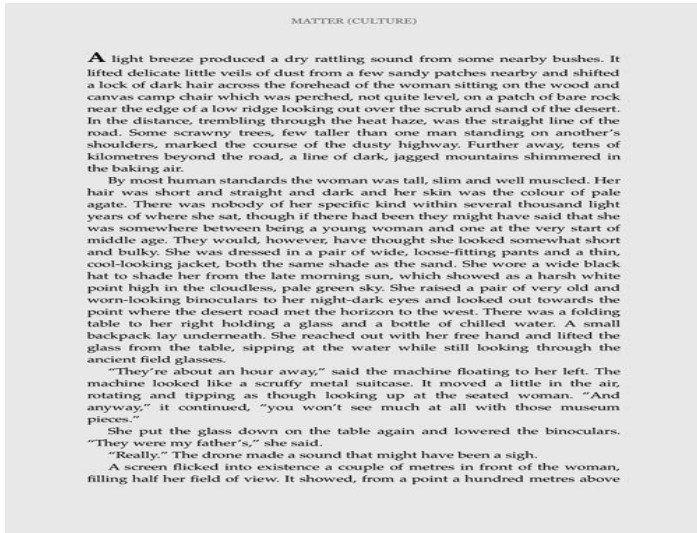
Genom



Chromosom



Gen



Gen

Nukleotyd

Mutacja

Efekt mutacji:

Białko nie jest produkowane.

Białko jest produkowane, ale jest degradowane.

Białko jest, ale nie działa prawidłowo.

Jutro w Oławie będzie piękna pogoda.

Jutro w **M**ławie będzie piękna pogoda.

Jutro będzie piękna pogoda.

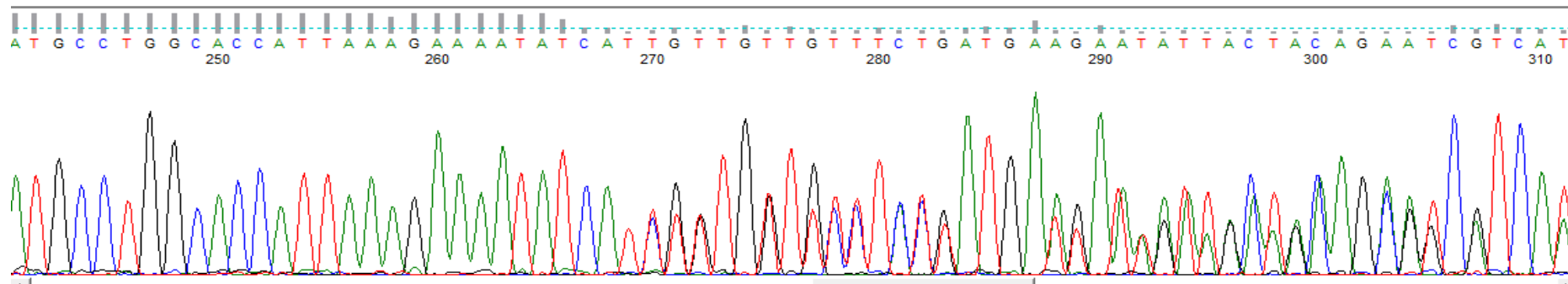
Jutro w **W**arszawie będzie piękna pogoda.

Jutro pogoda

Metody molekularne w diagnostyce genetycznej chorób marfanoidlanych

- Sekwencjonowanie Sangera
- Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS)
- MLPA

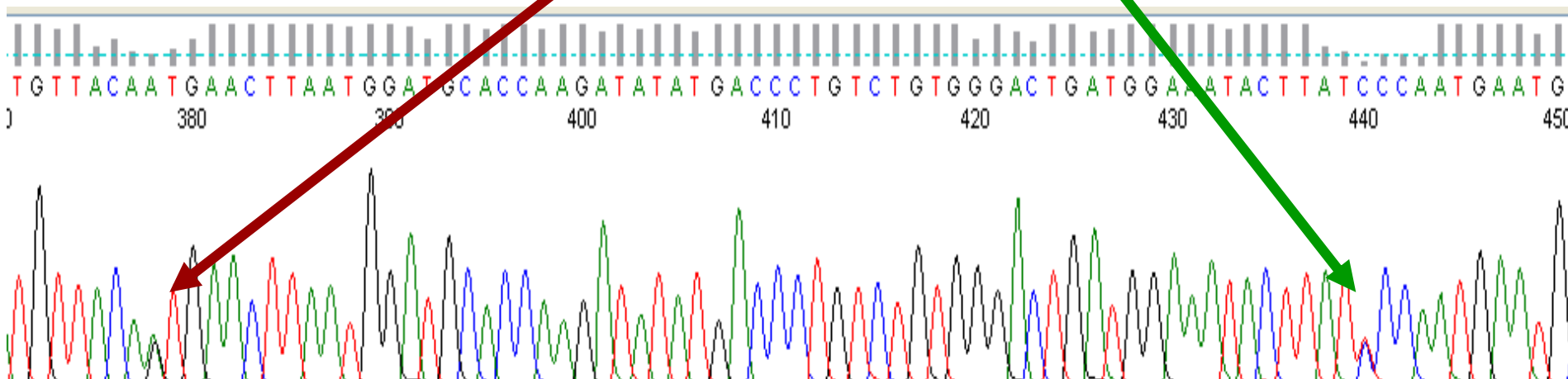
POSZUKIWANIE MUTACJI RZADKICH, ULTRARZADKICH I DE NOVO



SEKWENCJONOWANIE SANGERA: czułość 99,9%

Pozwala na wykrycie zarówno

mutacji częstych jak też **mutacji rzadkich**.

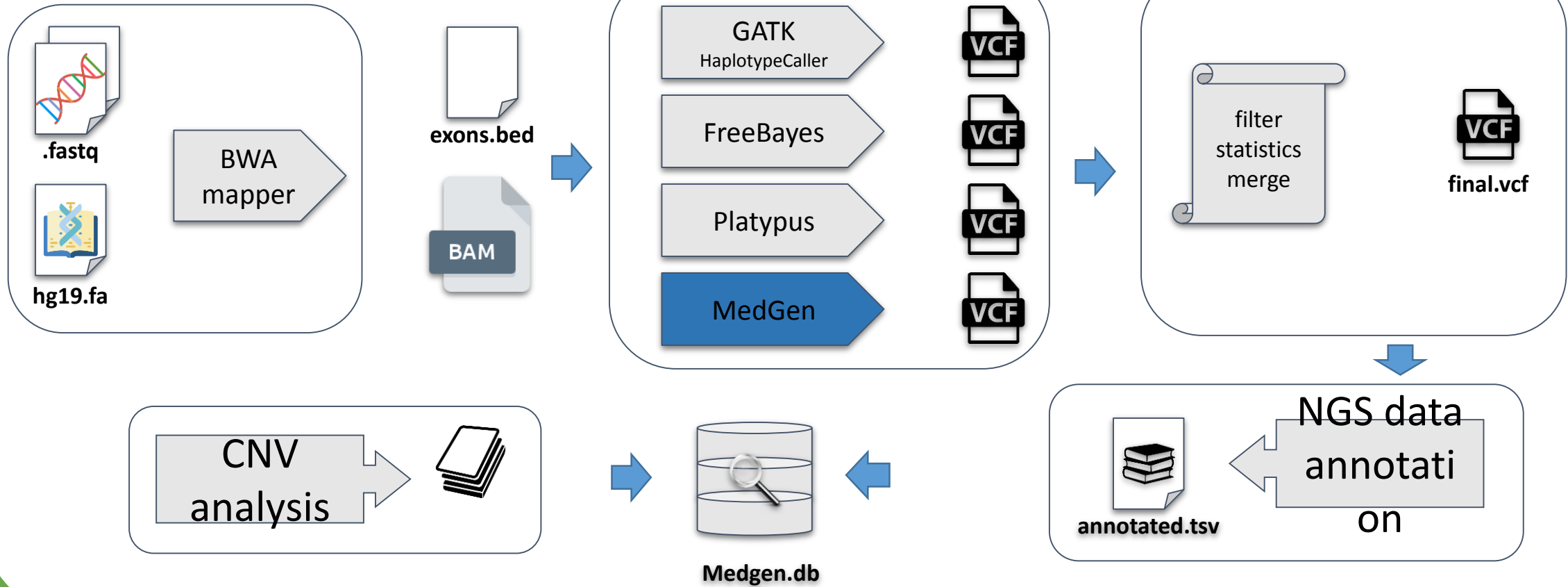


POSZUKIWANIE MUTACJI RZADKICH, ULTRARZADKICH I DE NOVO

SEKWENCJONOWANIE NOWEJ GENERACJI (NGS)



Workflow Manager: zsynchronizowane zarządzanie procesami (36h>3h)



CZY KAŻDA MUTACJA RZADKA/ULTRARZADKA/DE NOVO JEST PATOGENNA?

NIE!!!

znaleziono: 589

l.p.	gene	hg19	zm.	disease	qual	notes (for patient)	zyg	pat	id	gene	genomic_function	hgvs_easy	freq	rs	P2	MT	SF	clin	fr
1	ABCF1 (100)			Hypersensitivity Pneumonia Disease Progression OMIM: MIM_ID: 603429	999 31/31 PASS	edit	hom	0	2906276	ABCF1 OGCPG ^{2p} NHHR GVTB 70 [70]	frameshift_variant, stop_retained_variant	NM_001025091.1:c.2537_2538 insA NP_001020262.1:p.Ter846Ter	0.680000	rs72545970, rs4148252 dbSNP, CV	[edit]	[edit]	[edit]		227
2	ACTN2 (100)			Primary dilated cardiomyopathy Dilated cardiomyopathy 1AA Primary familial hypertrophic cardiomyopathy TC>T OMIM: Rodzinna izolowana kardiomiopatia rozstrzeniowa, Rodzinna lub idiopatyczna kardiomiopatia rozstrzeniowa [AD], Cardiomyopathy, hypertrophic, 23, with or without LVNC, 612158 [AD], MIM_ID: 102573 Cardiomyopathy, dilated, 1AA, with or without LVNC, 612158 (3) MIM_ID: 102573 Cardiomyopathy, hypertrophic, 23, with or without LVNC, 612158 (3)	805 71/33 PASS	edit	het	0	2443839	ACTN2 OGCPG ^{2p} NHHR GVTB 164 [164]	frameshift_variant	NM_001278344.1:c.95 delC NP_001265273.1:p.Pro32LeufsTer12	0.560000	rs11355106 dbSNP, CV	[edit]	[edit]	[edit]		238
3	ADAMTS12 (100)			Arthritis Tobacco Use Disorder Heart Failure OMIM: MIM_ID: 606184	999 44/44 SOR	edit	hom	0	433786	ADAMTS12 OGCPG ^{2p} NHHR GVTB 14605 [14605]	stop_gained	NM_001324511.1:c.689T>A NP_001311440.1:p.Leu230Ter	0.443091	rs1530507 dbSNP, CV	[edit]	[edit]	[edit]		334
4	ADH1C (99/100)			Alcohol dependence Parkinson's disease Alcoholism OMIM: Predyspozycja do choroby Parkinsona [IC, Mu], Zmniejszone ryzyko uzależnienia od spożywania alkoholu [Mu], MIM_ID: 103730 {Alcohol dependence, protection against}, 103780 (3) MIM_ID: 103730 {Parkinson disease, susceptibility to}, 168600 (3)	999 49/49 SOR	edit	hom	0	557654	ADH1C OGCPG ^{2p} NHHR GVTB 251 [251]	stop_lost	NM_000669.3:c.232T>G NP_000660.1:p.Ter78GlyextTer?	0.991600	rs283413 dbSNP, CV	[edit]	[edit]	[edit]	B:2	457
5	ADH4 (97/100)			Liver Cirrhosis, Experimental Alcoholism Alcohol abuse OMIM: MIM_ID: 100064326	675 52/24 PASS	edit	het	0	485025	ADH4 OGCPG ^{2p} NHHR GVTB 252 [252]	stop_gained	NM_001306171.1:c.66T>A NP_001293100.1:p.Tyr22Ter	0.116813	rs3919370 dbSNP, CV	[edit]	[edit]	[edit]		192

- Programy bioinformatyczne do predykcji
- Obserwacje pacjentów (korelacje genotyp-fenotyp)
- Informacje z publikacji, baz genetycznych

Sprawozdanie z badania powinno zawierać wyniki, podsumowanie/interpretację itp. Najważniejsze elementy wyniku powinny znaleźć się na jednej stronie.



Lifestyle Genomics Research Centre Ltd.

Plymouth Science Park, 1 Davy Road, Derriford, Plymouth, PL6 8BX, UNITED KINGDOM

[contact us](#)

SAMPLE PROCESSED BY: Genome Centre at BARTS and The London School of Medicine and Dentistry

METHOD: Fluidigm TaqMan probe-based SNP genotyping / Illumina MiSeq, Next Generation sequencing

DATA CHECKED FOR ACCURACY BY: Genome Centre at BARTS and The London School of Medicine and Dentistry

NOTES:

[READ THIS FIRST](#)

[JOIN US ON FACEBOOK](#)

[BOOK AN APPOINTMENT](#)

Click to activate Search Engine: Look up genes, SNPs, pathways / traits

SNP RSID	INTERPRET	PARENT GENE & VARIANT	CATEGORY / PATHWAY	RISK ALLELES	cp00035834
rs1042026	rs1042026	ADH1B	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	CC	TT
rs1229984	rs1229984	ADH1B	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	TT	CC
rs6413413	rs6413413	ADH1B A178T	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	AA	TT
rs2066702	rs2066702	ADH1B A396C	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	AA	CC
rs2238151	rs2238151	ALDH2	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	TT	TT
rs671	rs671	ALDH2	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	AA	GG
rs72547566	rs72547566	ALDH3A2	Chemoprotection / Alcohol Metabolism	TT	CC
rs1523127	rs1523127	PXR	Chemoprotection / Bile Flow	CC	AA
rs2547231	rs2547231	SULT2A1	Chemoprotection / Bile Flow	AA	AA
rs1544410	rs1544410	VDR Bsm1	Chemoprotection / Bile Flow	TT	CT
rs8007267	rs8007267	GCH1 C36378991T	Chemoprotection / Biopterin	TT	CC
rs10483639	rs10483639	GCH1 G55306457C	Chemoprotection / Biopterin	CC	GG
rs7216389	rs7216389	GSDMB	Chemoprotection / Cell Danger Response	TT	CT
rs8192678	rs8192678	PPARGC1A	Chemoprotection / Detox	TT	CC
rs1799814	rs1799814	CYP1A1*4 C2453A	Chemoprotection / Detox I	TT	GG
rs2472304	rs2472304	CYP1A2	Chemoprotection / Detox I	AA	GA
rs2470893	rs2470893	CYP1A2	Chemoprotection / Detox I	TT	CC

genotype has no risk alleles

genotype has one risk allele

genotype has two risk alleles
either allele can be a risk or be beneficial

- 62 strony raportu
- brak jakichkolwiek wniosków

JAK UDZIELIĆ PORADY
GENETYCZNEJ???



Zespół Marfana i choroby marfanoidalne

Zespół Marfana

- Częstość występowania 1–2:10 000
- *FBN1*, 15q21.1 , 65 eksonów,
- Objawy: od postaci łagodnych dotyczących jednego narządu/układu do postaci ciężkich, o silnej progresji (postaci noworodkowe)
- uszkodzenie włókien sprężystych i zaburzenie w tworzeniu elastyny oraz substancji podstawowej tkanki łącznej.
- **fibrylina** jest głównym elementem mikrofibryli zewnątrzkomórkowych i jest obecna zarówno w elastycznej, jak i nieelastycznej tkance łącznej w całym ciele.
- mutacja *FBN1* -> za mało aktywnego białka -> objawy chorobowe
- 75% pacjentów dziedziczy mutację od rodzica, 25% pacjentów ma mutację *de novo*



Rodzic 1



chory

Rodzic 2



zdrowy

Potomstwo:



chory



chory

Ryzyko chorego dziecka: 50% w każdej kolejnej ciąży

Dziedziczenie autosomalne dominujące

Diagnostyka różnicowa w chorobach marfanoidalnych

Zespół Loeys'a-Dietz'a (5 genów)

Hemizygous loss-of-function pathogenic variants in the X-linked gene *BGN*

Wrodzona przykurczowa arachnodaktylia

[Dziedziczna choroba aorty piersiowej](#)

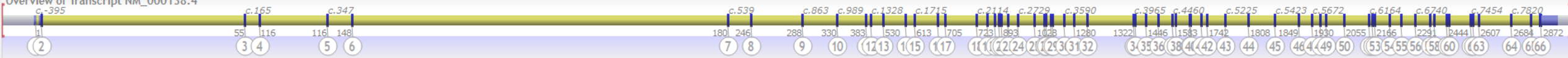
Zespół Ehlersa-Danlosa (EDS) (>30 genów)

[Homocystinuria \(cystathionine \$\beta\$ -synthase deficiency\)](#)

Zespół Sticklera (8 genów)

Zespół łamliwego chromosomu X

Overview of Transcript NM_000138.4



HGMD® Professional 2019.1

Gene Mutation Phenotype Reference Batch Advanced | Statistics Information

Gene Symbol	Location	Gene description
FBN1 AD (Aliases: ACMICD, ECTOL1, FBN, GPHYS2, MASS, MFLS, MFS1, OCTD, SGS, SSXS, WMS, WMS2)	15q21.1	Fibrillin 1 (Aliases: Asprosin; Epididymis secretory sperm binding protein; Fibrillin 15; Fibrillin-1 preproprotein)

Mutation type	Total number of mutations
Missense/nonsense	1710
Splicing substitutions	304
Regulatory substitutions	6
Small deletions	421
Small insertions/duplications	169
Small indels	34
Gross deletions	89
Gross insertions/duplications	6
Complex rearrangements	4
Repeat variations	0
TOTAL	2743

Variant class	Number of mutations
DM	2509
DM?	222
DP	9
R	3

Genetyczne badania diagnostyczne

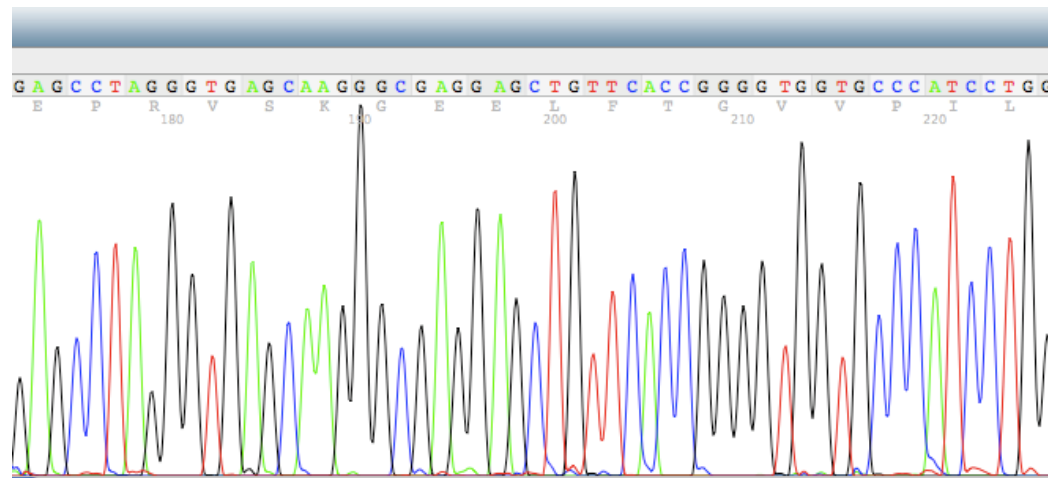
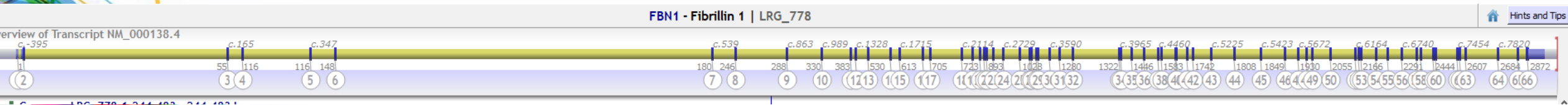
Zespół Marfana	KARDIOLOGIA-29	Badanie mutacji w genie FBN1 (eksony 24-32) metodą sekwencjonowania Sangera
Zespół Marfana i zespoły marfanoidalne	NGS-035P	Badanie 12 genów kojarzonych z cechami marfanoidalnymi: CBS, COL1A1, COL1A2, COL5A1, COL5A2, FBN1, FBN2, PLOD1, TGFB1, TGFB2, TNXB
Zespół Marfana i zespoły marfanoidalne	NGS-035W	Badanie 58 genów kojarzonych z cechami marfanoidalnymi
Zespół Marfana	KARDIOLOGIA-31A	Badanie rozległych rearanżacji (delecji i duplikacji) w genach FBN1 i TGFB2 metodą MLPA

Genetyczne badania diagnostyczne

Zespół Marfana

KARDIOLOGIA-29

Badanie mutacji w genie FBN1 (eksony 24-32) metodą sekwencjonowania Sangera



Analiza wybranych regionów genów i ujemny wynik **nie wykluczają** obecności mutacji w niebadanych regionach genu

Genetyczne badania diagnostyczne – metoda NGS (sekwencjonowanie nowej generacji)

Zespół Marfana i zespoły
marfanoidalne

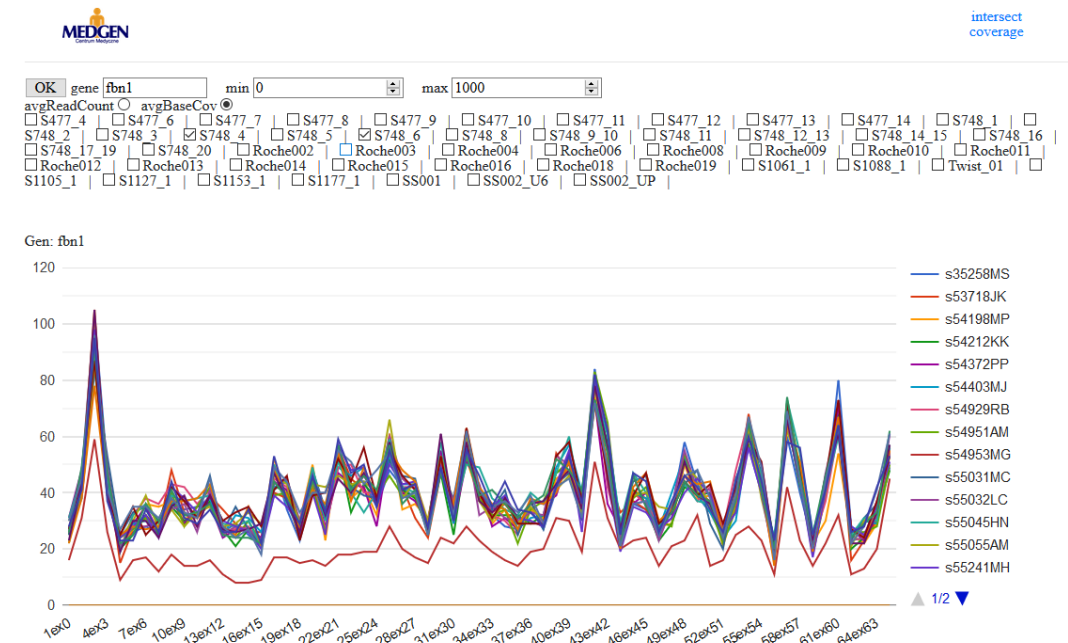
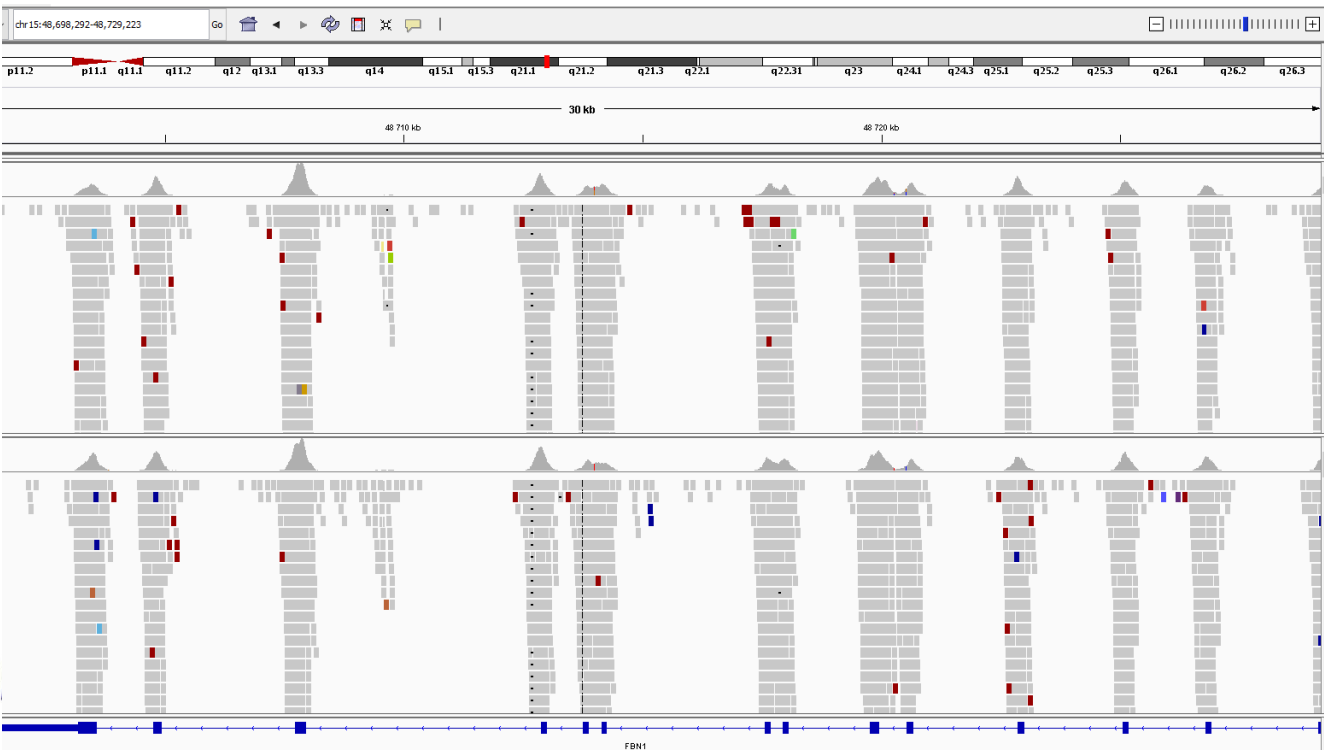
NGS-035P

Badanie 12 genów kojarzonych z cechami marfanoidalnymi:
CBS, COL1A1, COL1A2, COL5A1, COL5A2, FBN1, FBN2,
PLOD1, TGFB1, TGFB2, TNXB

Zespół Marfana i
zespoły marfanoidalne

NGS-035W

Badanie 58 genów kojarzonych z cechami marfanoidalnymi



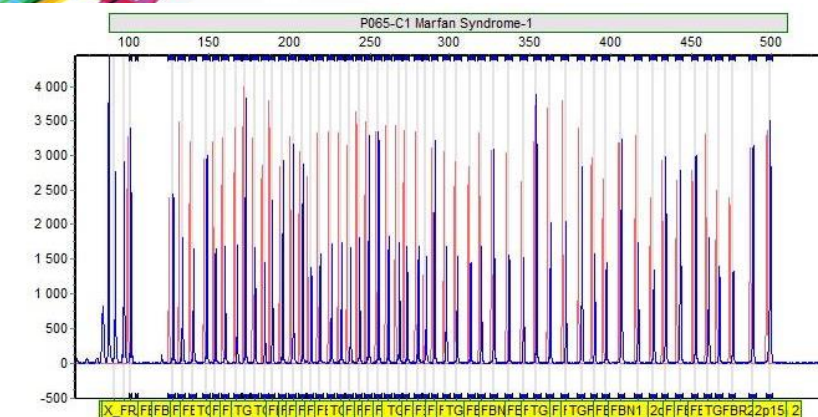
Genetyczne badania diagnostyczne

Zespół Marfana

KARDIOLOGIA-31A

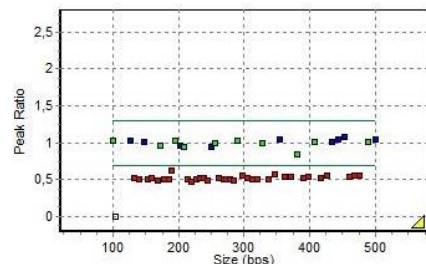
Badanie rozległych rearanżacji (delecji i duplikacji) w genach FBN1 i TGFB2 metodą MLPA

Analiza delecji *FBN1* metodą MLPA



Sample Name: mlpa.MLPA.65347_P065-FBN1ITGFB2
Machine: ABI3730-27119-004
Run Time: 05/20/2019 - 10:36:21 -> 05/20/2019 - 11:31:55

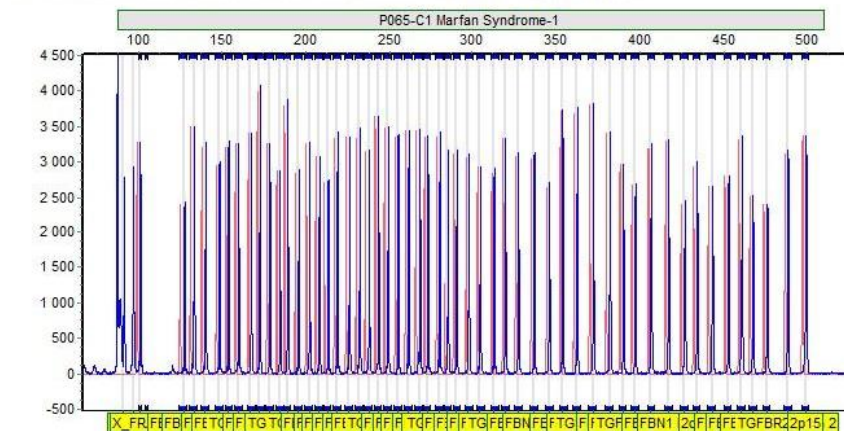
Conclusion	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		



NIEPRAWIDŁOWY

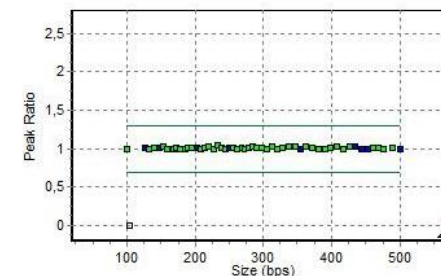
11	FBN1 Exon 11	475.8	0.550
12	FBN1 Exon 13	213.0	0.512
13	FBN1 Exon 15	272.8	0.503
14	FBN1 Exon 16	320.4	0.504
15	FBN1 Exon 19	372.0	0.539
16	FBN1 Exon 2	140.1	0.514
17	FBN1 Exon 20	417.4	0.525
18	FBN1 Exon 21	298.4	0.552
19	FBN1 Exon 22	460.9	0.546
20	FBN1 Exon 25	160.1	0.520
21	FBN1 Exon 26	280.1	0.503
22	FBN1 Exon 27	226.0	0.511
23	FBN1 Exon 28	243.3	0.497
24	FBN1 Exon 31	237.5	0.527
25	FBN1 Exon 32	285.4	0.497
26	FBN1 Exon 35	337.2	0.509
27	FBN1 Exon 37	390.1	0.532
28	FBN1 Exon 38	261.5	0.528
29	FBN1 Exon 4	167.8	0.498
30	FBN1 Exon 41	426.5	0.561
31	FBN1 Exon 43	184.7	0.507
32	FBN1 Exon 47	154.4	0.513
33	FBN1 Exon 48	232.1	0.520
34	FBN1 Exon 49	362.6	0.549
35	FBN1 Exon 51	267.6	0.507
36	FBN1 Exon 52	178.9	0.514
37	FBN1 Exon 54	313.8	0.509
38	FBN1 Exon 57	346.5	0.575
39	FBN1 Exon 60	467.6	0.559
40	FBN1 Exon 62	133.2	0.518
41	FBN1 Exon 63	397.2	0.545
42	FBN1 Exon 64	305.3	0.524
43	FBN1 Exon 7	189.2	0.625
44	TGFB2 Exon 1	381.9	0.837
45	TGFB2 Exon 11	407.0	1.018
46	TGFB2 Exon 2	488.5	1.011
47	TGFB2 Exon 3	195.7	1.029
48	TGFB2 Exon 4	208.0	0.939
49	TGFB2 Exon 5	255.4	0.999
50	TGFB2 Exon 6	291.0	1.034
51	TGFB2 Exon 7	327.9	1.004
52	TGFB2 Exon 8	173.2	0.957
53	X_FRAG	101.4	1.038
54	Y_FRAG	105.5	-1

mlpa.P065-FBN1ITGFB2.K_58462_F07_GS0283.fsa Kontrola żeńska 58462



Sample Name: mlpa.P065-FBN1ITGFB2.K_58462
Machine: ABI3730-27119-004
Run Time: 05/20/2019 - 10:36:21 -> 05/20/2019 - 11:31:55

Conclusion	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		



9	8q22	148.7	1.019
10	FBN1 Exon 1	219.0	1.025
11	FBN1 Exon 11	475.8	1.001
12	FBN1 Exon 13	213.0	1.015
13	FBN1 Exon 15	272.8	1.001
14	FBN1 Exon 16	320.4	1.005
15	FBN1 Exon 19	372.0	1.008
16	FBN1 Exon 2	140.1	1.022
17	FBN1 Exon 20	417.4	1.004
18	FBN1 Exon 21	298.4	1.019
19	FBN1 Exon 22	460.9	1.017
20	FBN1 Exon 25	160.1	1.000
21	FBN1 Exon 26	280.1	1.020
22	FBN1 Exon 27	226.0	1.001
23	FBN1 Exon 28	243.3	1.000
24	FBN1 Exon 31	237.5	1.006
25	FBN1 Exon 32	285.4	1.027
26	FBN1 Exon 35	337.2	1.032
27	FBN1 Exon 37	390.1	1.000
28	FBN1 Exon 38	261.5	1.000
29	FBN1 Exon 4	167.8	1.000
30	FBN1 Exon 41	426.5	1.024
31	FBN1 Exon 43	184.7	1.000
32	FBN1 Exon 47	154.4	1.033
33	FBN1 Exon 48	232.1	1.044
34	FBN1 Exon 49	362.6	1.024
35	FBN1 Exon 51	267.6	1.008
36	FBN1 Exon 52	178.9	1.000
37	FBN1 Exon 54	313.8	1.026
38	FBN1 Exon 57	346.5	1.029
39	FBN1 Exon 60	467.6	1.007
40	FBN1 Exon 62	133.2	1.000
41	FBN1 Exon 63	397.2	1.007
42	FBN1 Exon 64	305.3	1.003
43	FBN1 Exon 7	189.2	1.020
44	TGFB2 Exon 1	381.9	1.004
45	TGFB2 Exon 11	407.0	1.024
46	TGFB2 Exon 2	488.5	1.016
47	TGFB2 Exon 3	195.7	1.015
48	TGFB2 Exon 4	208.0	1.005
49	TGFB2 Exon 5	255.4	1.014
50	TGFB2 Exon 6	291.0	1.013
51	TGFB2 Exon 7	327.9	1.015
52	TGFB2 Exon 8	173.2	1.021
53	X_FRAG	101.4	1.004
54	Y_FRAG	105.5	-1

obecność delecji

brak delecji

Serdecznie zapraszamy do Poradni Genetycznej



Poradnictwo genetyczne



Nieinwazyjne przesiewowe badanie prenatalne: Chłopiec z zespołem Klinefeltera (47, XXY)



Wywiad rodzinny: „siostra ma syna niepełnosprawnego intelektualnie”



Zespół łamliwego chromosomu X (FRAXA) u siostrzeńca



Badanie pacjentki w trybie CITO: nosicielstwo mutacji



Rozwijające się dziecko ma 50% choroby FRAXA

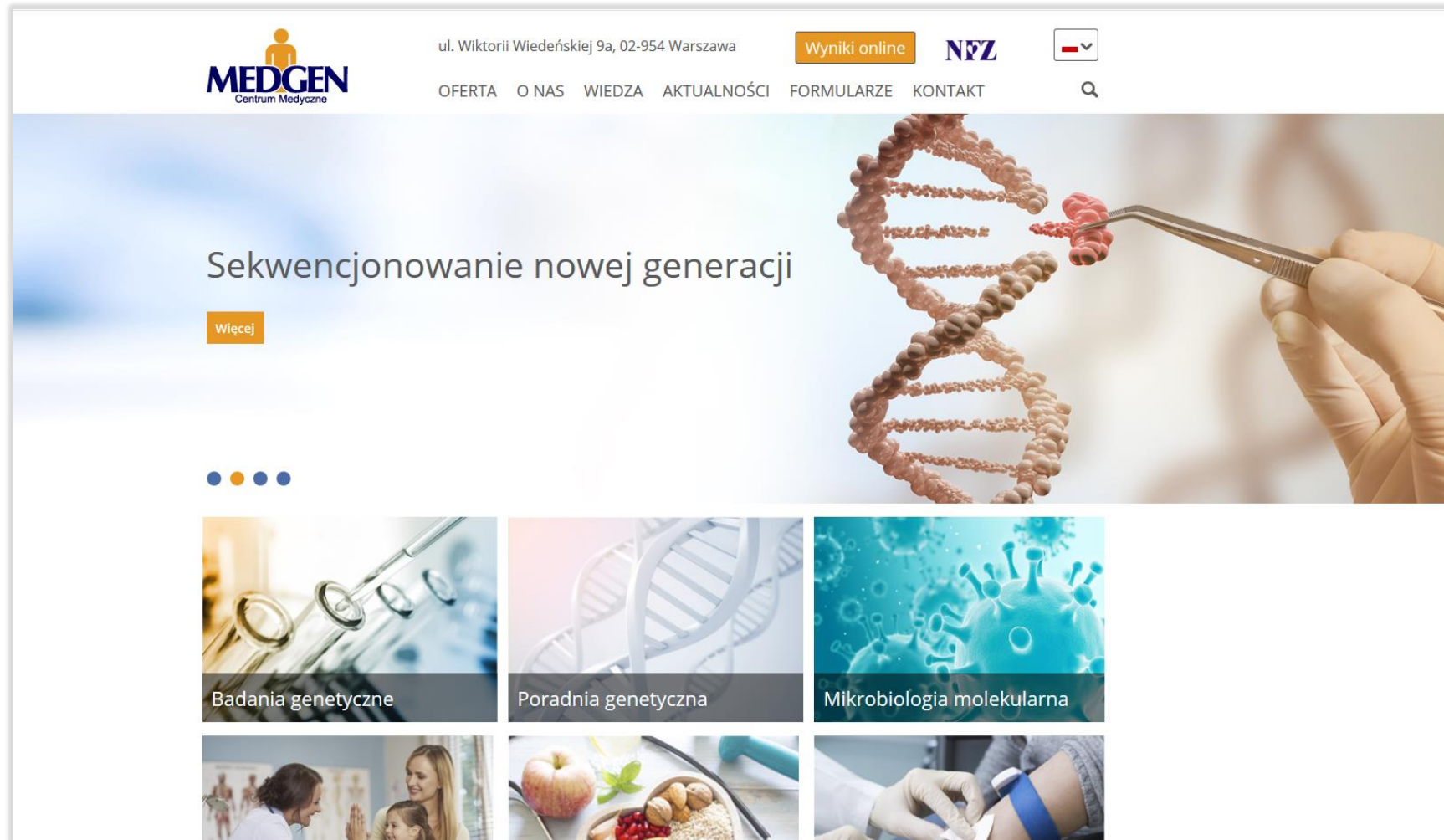
Warto zastanowić się/zaplanować odpowiednio wcześniej nad konsultacją u lekarza genetyka

A decorative graphic on the left side of the slide, featuring a colorful DNA double helix structure. The helix is composed of many overlapping, swirling lines in various colors including red, orange, yellow, green, blue, and purple, creating a vibrant and dynamic visual effect.

Poradnictwo genetyczne

- Choroby onkologiczne
- Niepełnosprawność intelektualna
- Śmierć noworodków/niemowląt w rodzinie
- Poronienia, problemy z donoszeniem ciąży
- Wady kostne, dysmorfie
- Przewlekłe choroby

Laboratorium Badań Genetycznych i Poradnia Genetyczna
ul. Wiktorii Wiedeńskiej 9a, 02-954 Warszawa
diagnostyka@medgen.pl



Dziękuję za uwagę

