



**Potřebné genetické testy pro výzkum a jejich
dostupnost, spolupráce s neurology**

Tat'ána Maříková

Parent projekt

Praha 19.2.2009

Diagnostika MD – její vývoj

- **1981-1986: zdokonalování diferenciální diagnostiky pomocí počítačových systémů a rozvíjení laboratorních metod**
- **od 1990: postupné zavádění DNA diagnostiky**
- **od 2000: zavádění a využívání molekulárně patologických metod**
- **od 1992 – výzkum genové terapie (mdx myši ...klinické studie DMD pacientů)**



Praktické genetické poradenství

1. Diagnóza

2. Typ dědičnosti

3. Určení rizikových členů v rodině

4. Genetická prevence

Praktické genetické poradenství

1. Diagnóza:

- ***klinická***
 - a) *muskulární dystrofie – Duchenne/Becker,*
 - b) *kardiomyopatie,*
 - c) *syndrom crampi, myalgie, myoglobinurie*
- ***molekulárně genetická***

DMD gen Xp21.2, 2,3 Mb, 79 exonů, 2/3 velké delece, bodové mutace
- ***biochemická***

dystrofin, 3684 amk, 427 kDa, kde se exprimuje, alternativní splicing + 260, 140, 116, 71 a 40 kDa

Praktické genetické poradenství

2. Typ genetického přenosu:

X vázaná, recesivní

postižení muži

ženy heterozygotky zdravé, 19% manifestní přednašečství

14% germinální mozaicismus

Praktické genetické poradenství

3. Určení rizikových čenů v rodině

Stanovení genetického rizika pro jejich potomstvo

*Sporadické případy (1/3 čerstvých mutací,
pravděpodobnost přednašečství u matky 2/3)*

Praktické genetické poradenství

4. Genetická prevence- prenatální diagnostika

Opírá se o DNA analýzu přímou a nepřímou

CVS, AC : *určení pohlaví plodu, u plodu mužského pohlaví mutační analýza*

PGD: *IVF, transfer embryí ženského pohlaví, u rozsáhlých delecí detekovatelných metodou FISH- mutační analýza embryí mužského pohlaví s následným transferem embryí bez mutace*

Spolupráce s neurology

Gastroenterolog

vysoké jaterní enzymy; CK

Neurolog

Myopatický syndrom

Laboratorní vyšetření: biochemické markery CK

Elektrofyzilogické

Závěr: muskulární dystrofie

dif. dg. pletencová muskulární dystrofie (LGMD)
(heterogenní: sarkoglykan, kalpain-3, dysferlin)

LGMD: 90% AR, 10% AD

Genetik

**1. DNA analýza vyšetření delecí
delece jeden a více exonů– cca 2/3
duplikace (10%)**

2. Není-li delece či duplikace

**Muskulární biopsie – imunohistochemická analýza
na jednotlivé domény příslušných proteinů**

Při deficienci daného proteinu

- mRNA analýza, při záchytu mutace-
- potvrzení na úrovni DNA

Mutační analýza rizikových členů rodiny

POZOR

Genetické vyšetření rodiny je nezbytné

Úskalí: syn má mutaci, matka nikoliv

- a) u syna čerstvá mutace**
- b) matka germinální mozaika (10-20%)**

**Proto – v dalších graviditách u matky nabízíme
prenatální diagnostiku**

U dcery indikována DNA analýza příslušné mutace

Úskalí 1

Pacienti s DMD a jejich rodiny nejsou doporučeni ke klinicko-genetickému vyšetření

PRAXE: neurology vyžádaná genetická vyšetření většinou z jiných indikací

Úskalí 2

Interpretace výsledků

Výsledky mRNA, DNA analýzy – nejednoznačné závěry, složitá interpretace, musí být v závěru explicitně uvedena

PROJEKT DATABÁZE

Klinická data

neurolog, který dítě sleduje kontinuálně

Mutace

genetik, nejlépe molekulární- zápisy složité,
nomenklatura se mění

Interpretace výsledků-příklad

Analýza mRNA: c./=, 4676_4675ins10/

Předpokládaná proteinová změna: p./,Val1559PhefsX20)

Analýza DNA:c.4675-11A>G

Klinický obraz ?

Interpretace výsledků-příklad

Analýza mRNA: c./'=, 4676_4675ins10/

Předpokládaná proteinová změna: p./,Val1559PhefsX20)

Analýza DNA:c.4675-11A>G

Závěr: transkripční varianta standardní a s inzercí 10 nukleotidů mezi 33.a 34 exonem (převládaly transkripty s inzercí).

Inzerce 10 nukleotidu vede k posunu čtecího rámce a ke vzniku předčasného terminačního kodonu

Analýzy DNA: bodová mutace v intronu 33

nové alternativní 3' místo sestřihu

Interpretace výsledků

Analýza mRNA: c./=, 4676_4675ins10/

Předpokládaná proteinová změna: p./,Val1559PhefsX20)

Analýza DNA:c.4675-11A>G

Klinický obraz : BMD



Péče o pacienty a rodiny

Interdisciplinární

Každý má nezastupitelnou roli

Genetická vyšetření mají svá specifita, větší začlenění rodiny

Pozor na interpretaci výsledků