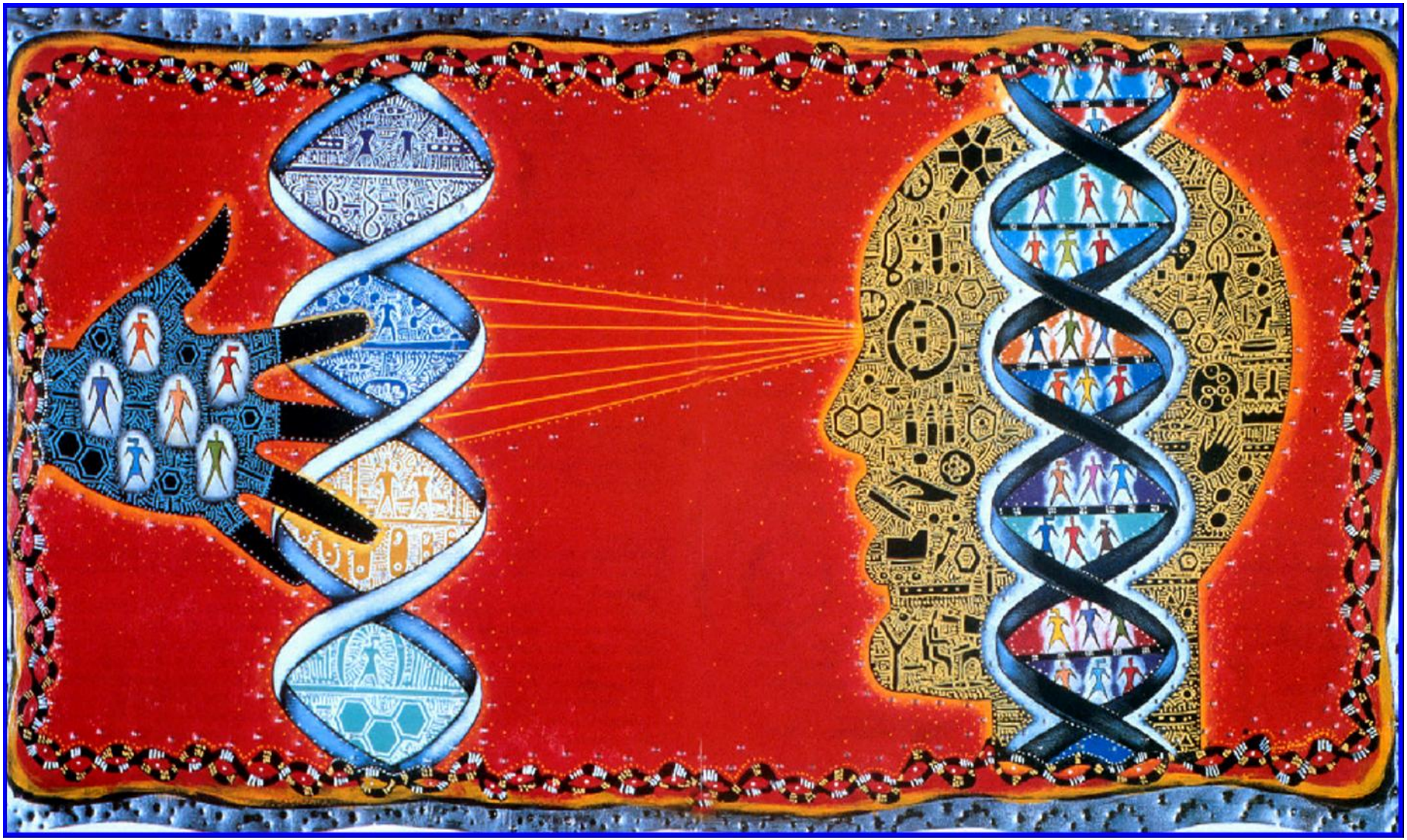
UNIVERSITÄTS
KLINIKUM
HEIDELBERG

Genetische Ursachensuche bei Kindern mit Entwicklungsstörungen

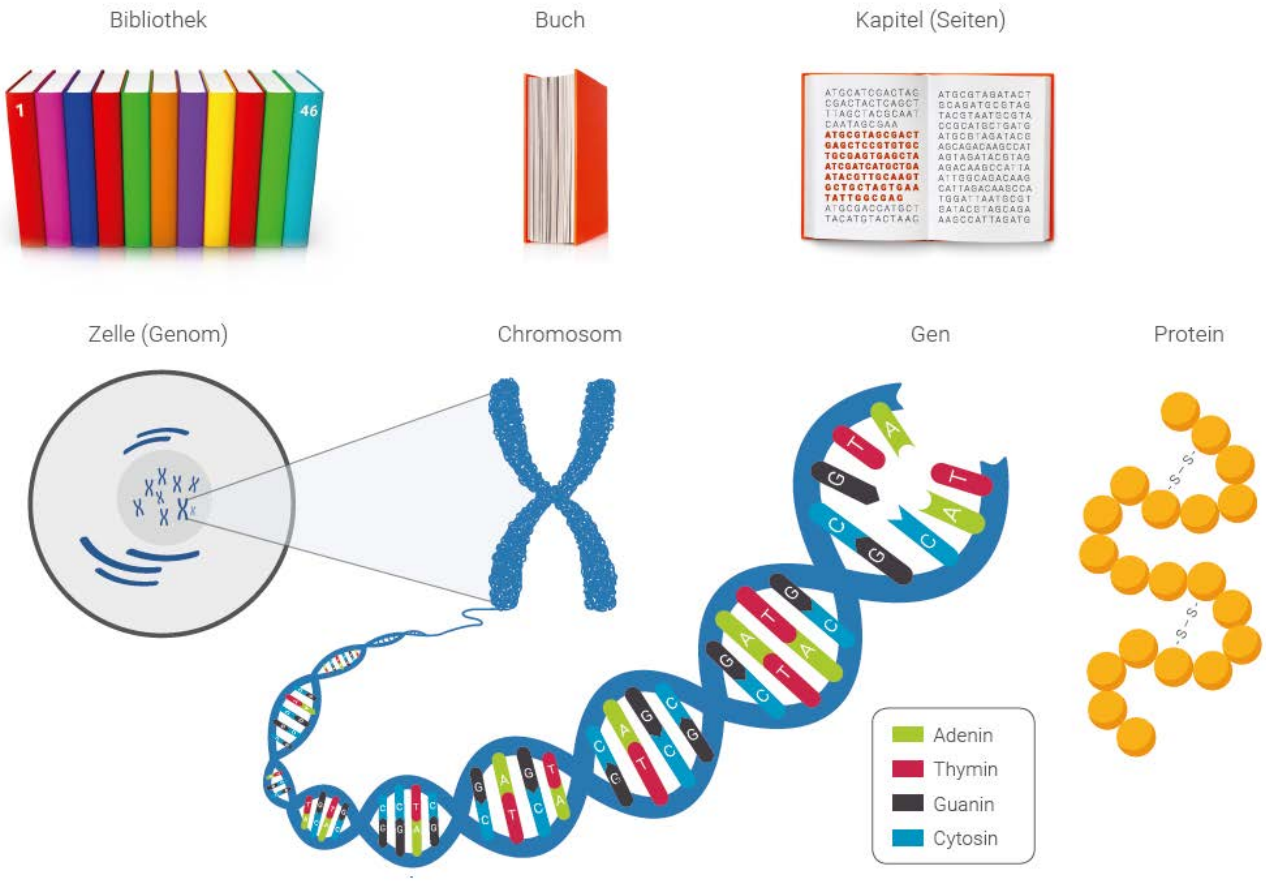
09. März 2019

Prof. Dr. Dr. med. Ute Moog

UK HD

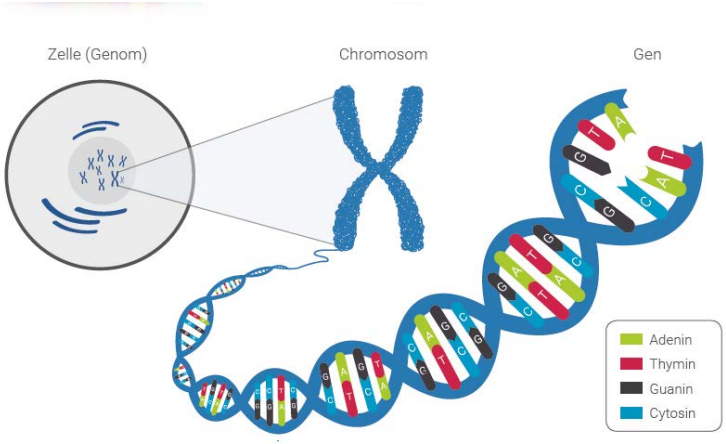


Was sind Gene und Chromosomen?



Aus: Zirn & Mehnert. *Handbuch für die Genetische Sprechstunde*. Springer 2017

Was ist ein Exom?



Aus: Zirn & Mehnert. *Handbuch für die Genetische Sprechstunde*. Springer 2017

In jeder Körperzelle befinden sich

- 1 Genom
- 46 Chromosomen
- 20.000 Gene

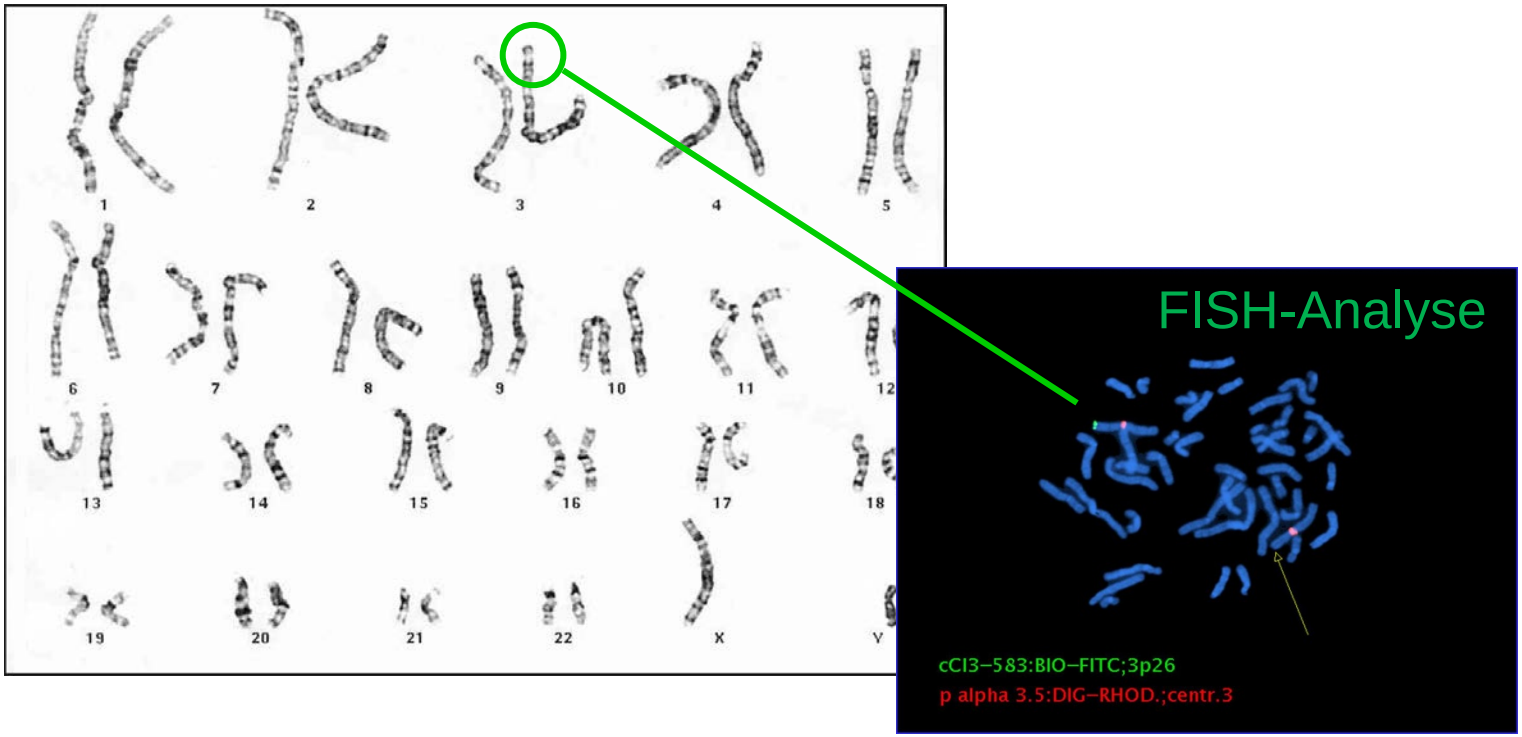
Exom:

- Gesamtheit aller kodierenden Exone
- 1-2% des Genoms

„Klinisches Exom“:

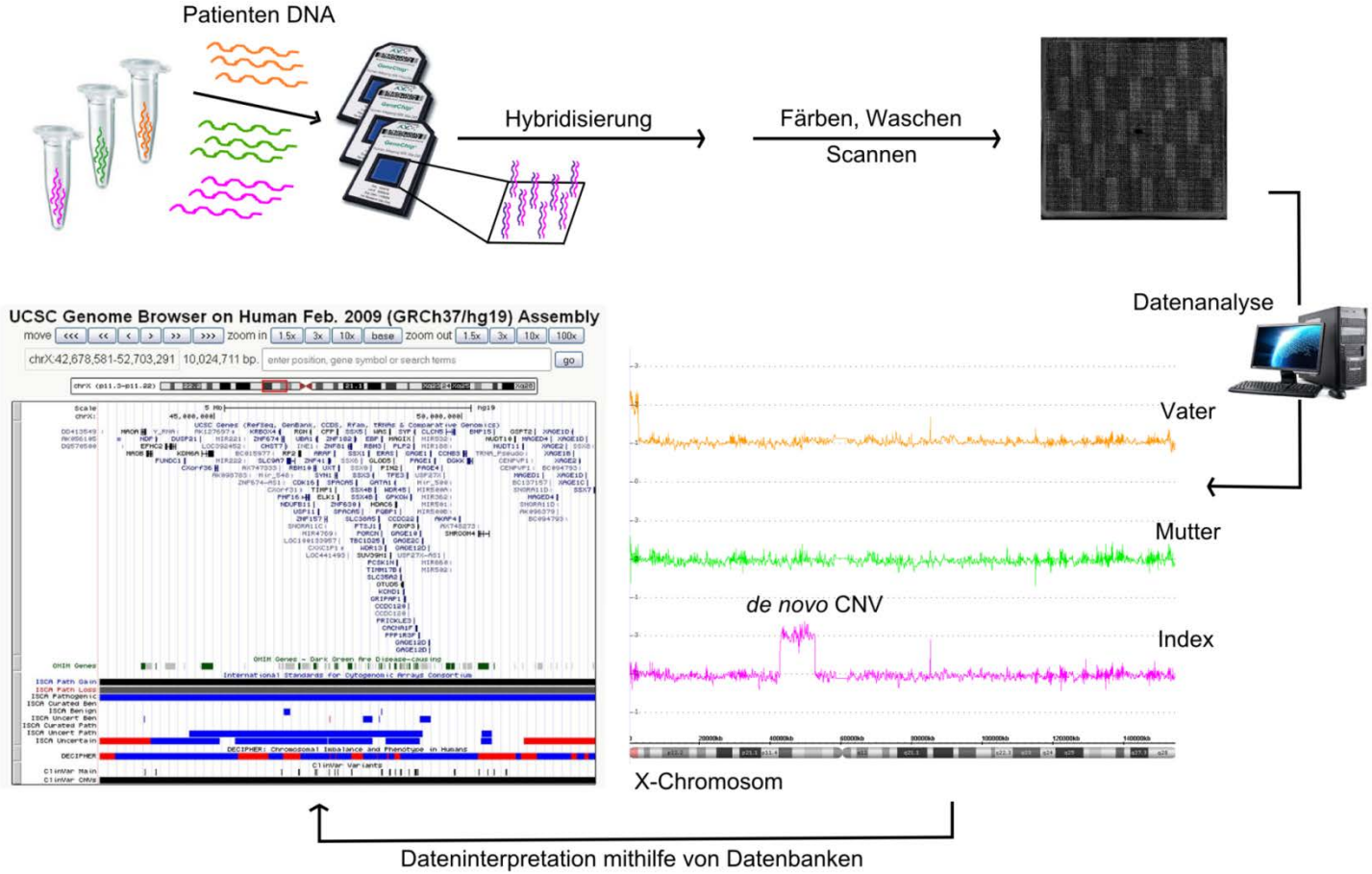
- Subset des Exoms
- Ca. 62.000 Exone von ca. 4.800 krankheitsassoziierten Gene

Klassische (mikroskop.) Chromosomenuntersuchung



- Material: Heparinblutprobe
- Erstrebte Auflösung: ≥ 550 Banden
- Sichtbare Störungen: ab ca. 5 Mb (5.000 kb, 5.000.000 bp)

Array-Diagnostik



Moog et al. *Pädiat Prax* 2014/2015;83:355-367.

Mikrodeletionen/ -duplikationen

ERGEBNIS

Bei der Indexpatientin wurde nach o. g. Auswertekriterien folgende chromosomale Imbalance gefunden:

arr[hg19] 15q26.1(90,394,518-90,497,831)x1

	Chromosomale Lokalisation	von bp	bis bp	von Marker	bis Marker	Größe [kb]	Kopienzahl	Beurteilung
Deletion	15q26.1	90.394.518	90.497.831	C-3CSHQ	S-3DPOO	103	1	unklar

INTERPRETATION

Die molekulare Karyotypisierung konnte bei der Indexpatientin in der Chromosomenregion 15q26.1 eine ca. 100 kb große Deletion nachweisen. Im Bereich der Deletion liegen 3 RefSeq Gene (*AP3S2*, *C15orf38*, *C15orf38-AP3S2*), welche jedoch noch nicht im Zusammenhang mit einer Entwicklungsverzögerung beschrieben wurden. Vergleichbare Deletionen wurden bislang weder bei Kontrollpersonen (*Database of Genomic Variants*) noch bei Patienten nachgewiesen. Zum derzeitigen Kenntnisstand ist daher unklar inwiefern die Deletion im Zusammenhang mit dem Phänotyp der Patientin steht. Zur weiteren Abklärung wäre eine Analyse der Eltern auf die bei ihrer Tochter nachgewiesene Deletion in Erwägung zu ziehen.

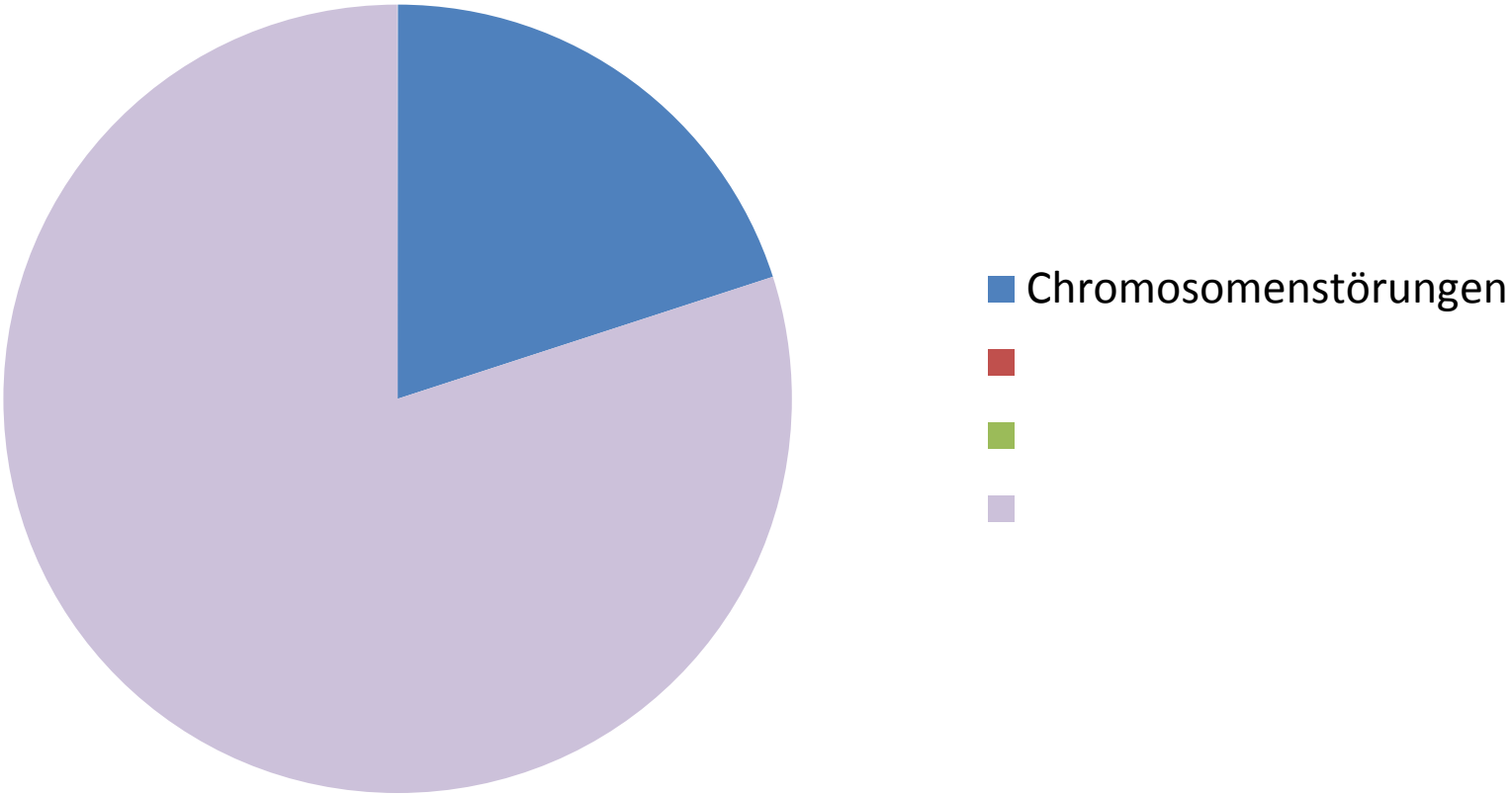
Deletion 1p36

- Schwere globale Entwicklungsstörung/ geistige Behindeurng
- Hirnfehlbildungen, Epilepsie
- Verhaltensauffälligkeiten
- Kleinwuchs
- Angeborene Herzfehler

Hilfen bei der Interpretation

- Vererbt oder *de novo?*
- Segregation in der Familie
- Größe und genomischer Inhalt
- Datenbanken u. Suchmaschinen zur Bewertung von CNVs
- Duplikationen schwieriger zu bewerten als Deletionen

Ursachen von Entwicklungsstörungen und geistiger Behinderung



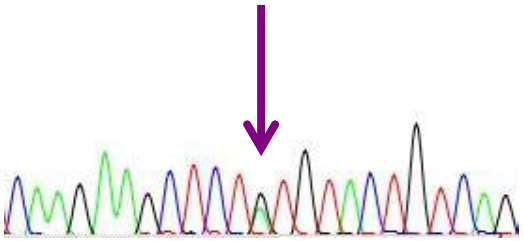
Einzelgen-Analyse

Sanger-Sequenzierung:

Nachweis von Mutationen auf DNA-Ebene

Nachteil:

- Hoher Anteil manueller Arbeit, damit hoher Zeitaufwand
- Auswertung nur bedingt automatisierbar, damit fehlerbehaftet
- Kein Nachweis von Deletionen/Duplikationen



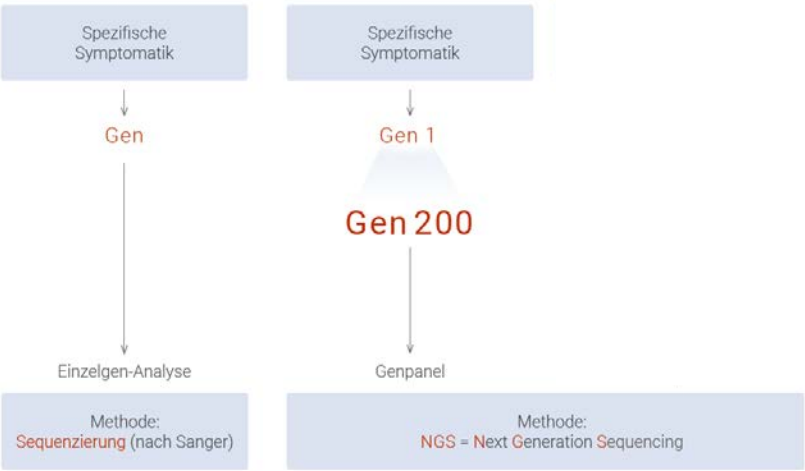
Sinnvoll wenn

- Klare Verdachtsdiagnose
- Krankheit nicht (sehr) heterogen

Beispiel: Rett Syndrom

- Mädchen mit sek. Mikrozephalie
- Unauffällig bis ≥ 6 LM
- Regression gefolgt von Stabilisierung
- Handstereotypien

Gen-Panels



Aus: Zirn & Mehnert. *Handbuch für die Genetische Sprechstunde*. Springer 2017

Beispiel: Bardet-Biedl-Syndrom

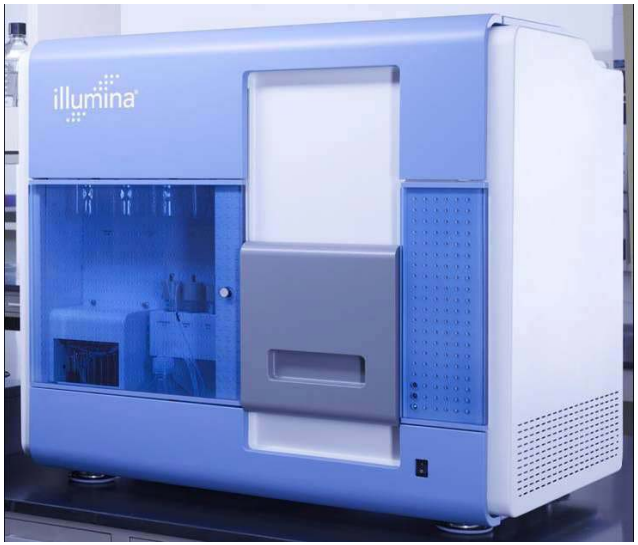
- Autosomal rezessiv
- Sehr heterogen, derzeit 19 Gene aus der Gruppe der Ciliopathien
- Lernbehinderung/leichte geistige Behinderung
- Adipositas
- Retinitis pigmentosa
- Polydaktylie
- Renale Pathologie

Next Generation Sequencing (NGS)

Erste Generation = Sanger-Sequenzierung

„Next Generation“

- Technologien zur parallelen Analyse multipler DNA-Regionen
- ermöglicht Sequenzierung ganzer Exome (Whole Exome Sequencing) bzw. Genome (Whole Genome Sequencing)



Illumina/Solexa-System

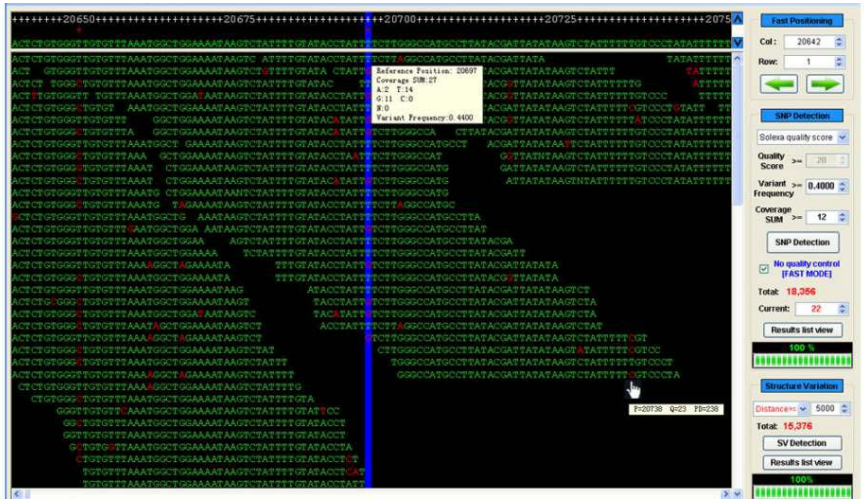


FIGURE 1: ILLUMINA GENOME ANALYZER FLOW CELL

Up to eight samples can be loaded onto the flow cell for simultaneous analysis on the Illumina Genome Analyzer.

Genomweite Sequenzierung

Figure 9.1 Cost (in US$) per Mb of DNA sequence as determined by the National Human Genome Research Institute.

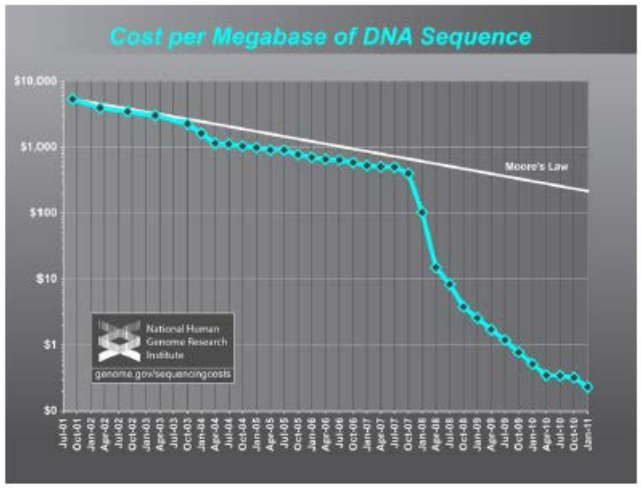
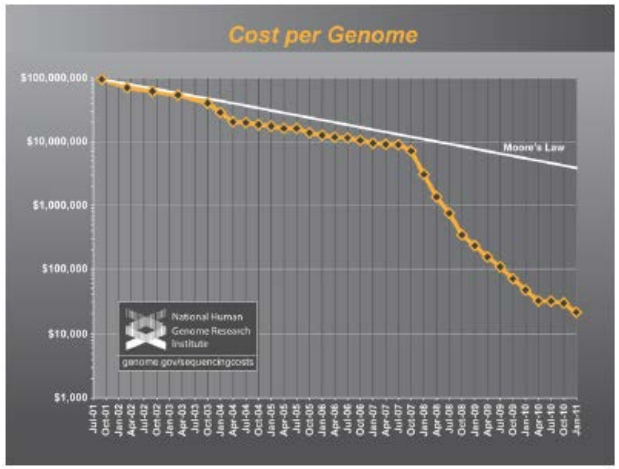


Figure 9.2 Cost (in US$) per human genome of DNA sequence as determined by the National Human Genome Research Institute.



Kosten der Genom-Sequenzierung:

- Bis Ende 2007 ~ US$ 10 Millionen
- Ende 2015 ~ US$ 1.500
- Absehbar: < US$ 1.000

Payne et al. *Nat Rev Genet* 2018

Next Generation Sequencing (NGS)

Einsatz bei genetisch heterogenen Krankheitsbildern

© American College of Medical Genetics and Genomics

ACMG STANDARDS AND GUIDELINES | Genetics inMedicine

Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

Sue Richards, PhD[1], Nazneen Aziz, PhD[2,16], Sherri Bale, PhD[3], David Bick, MD[4], Soma Das, PhD[5], Julie Gastier-Foster, PhD[6,7,8], Wayne W. Grody, MD, PhD[9,10,11], Madhuri Hegde, PhD[12], Elaine Lyon, PhD[13], Elaine Spector, PhD[14], Karl Voelkerding, MD[13] and Heidi L. Rehm, PhD[15]; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

z.B. Fragile(X) Syndrom, Myotone Dystrophie

- **Interpretation der zahlreichen Varianten**
- Mitteilung von Zusatzbefunden?

HPO-Terminologie

- Human Phenotype Ontology (HPO)

http://human-phenotype-ontology.com

- Verschiedene Tools, u.a.
  - Phenomizer (klin. Diagnostik)

http://compbio.charite.de/phenomizer/

Befunde in HPO-Terminologie:

Im Folgenden beschreiben wir die bei XX vorliegenden Auffälligkeiten mit Begriffen der sog. „Human Phenotype Ontology“ (HPO). Dadurch soll eine im medizinischen Bereich einheitliche Bezeichnung von Symptomen/Befunden bei V.a. auf ein genetisches Syndrom erreicht werden.
Symptome/Befunde bei XX nach HPO:

Sci Transl Med 2014;6:252ra123

Interpretation von NGS-Daten

Höhere Diagnose-Rate bei guter Kenntnis des klinischen Bildes

Published in final edited form as:
Genet Med. 2017 September ; 19(9): 1040–1048. doi:10.1038/gim.2016.224.

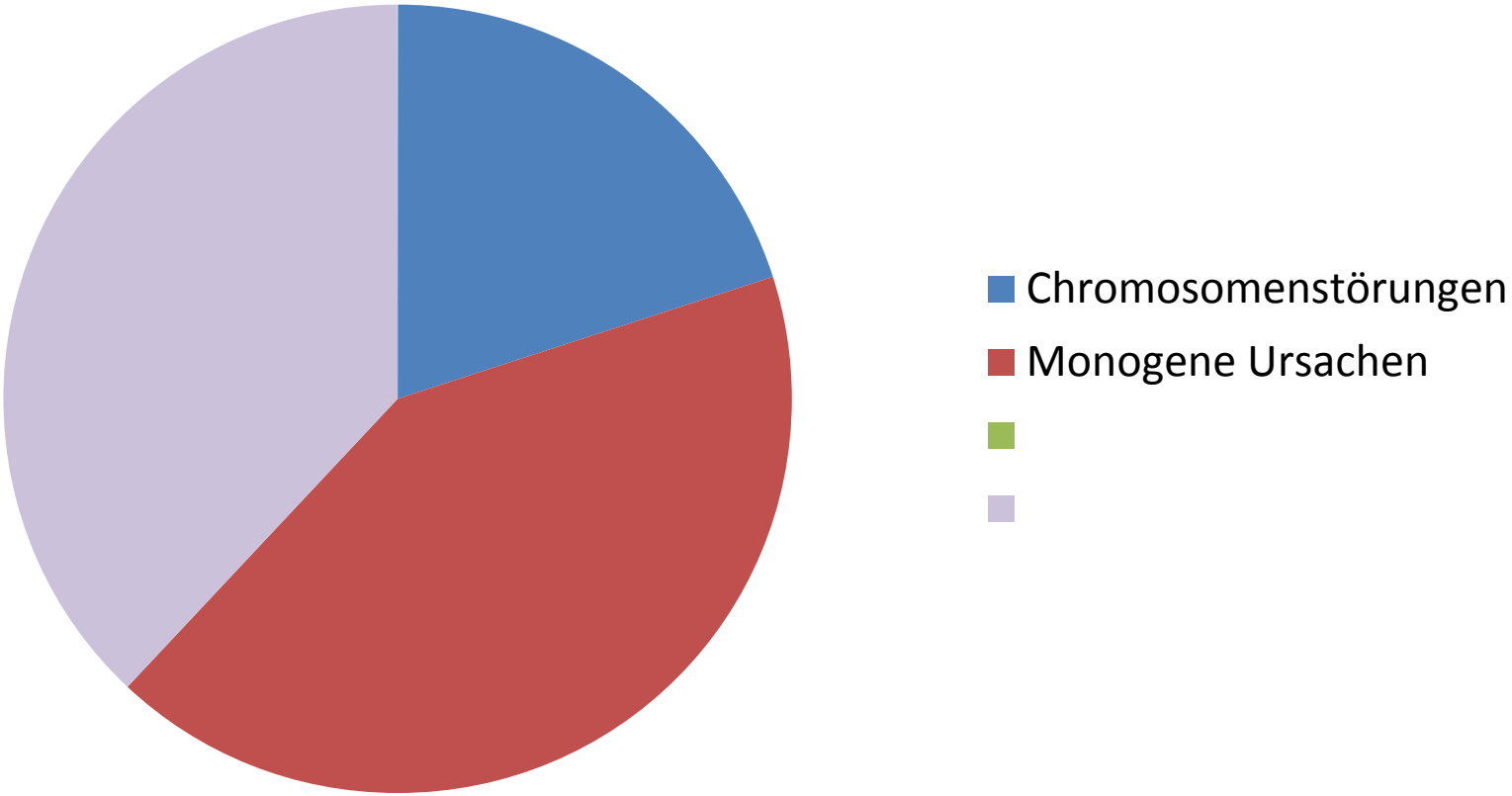
The Exome Clinic and the Role of Medical Genetics Expertise in Interpretation of Exome Sequencing Results

Dustin Baldridge[1], **Jennifer Heeley**[1,2], **Marisa Vineyard**[1], **Linda Manwaring**[1], **Tomi L Toler**[1], **Emily Fassi**[1], **Elise Fiala**[1], **Sarah Brown**[3], **Charles W. Goss**[4], **Marcia Willing**[1], **Dorothy K Grange**[1], **Beth A Kozel**[1,5], and **Marwan Shinawi**[1,*]

Results—The most common primary indication was neurodevelopmental problems (~66%), followed by multiple congenital anomalies (~10%). The overall diagnostic yield was 36% based on sequencing data. After assessment by the medical geneticist, incorporation of detailed phenotypic and molecular data, and utilization of additional diagnostic modalities, the final diagnostic yield was increased to 43%. Seven patients of our cohort were included in initial case series that described novel genetic syndromes, and 23% of patients were involved in subsequent research studies directly related to their results or involved in efforts to move beyond clinical ES for diagnosis. The clinical management was directly altered due to the ES findings in 12% of definitively diagnosed cases.

Baldridge Det al *Genet Med* 2017;19:1040-1048

Ursachen von Entwicklungsstörungen und geistiger Behinderung



Beispiel 1

Trio-Exom-Sequenzierung:

Neu-Mutation in *IQSEC2*

- Schwere Entwicklungsstörung / geistige Behinderung
- Evt. schwere Epilepsie
- Evt. weitere neurol. Auffälligkeiten
- Evt. Mikrozephalie

Gorlin-Syndrom (Nävoides-Basalzellkarzinom-Syndrom)

- Basaliome
  - UV-Exposition vermeiden
  - Regelm. Hautuntersuchungen
- Odontogene Kieferzysten
  - Orthopantomogramm (alle 12-18Mo)
- Skelettanomalien
- Hohe, vorgewölbte Stirn, Makrozephalie
- Hydrocephalus
- Kalzifikationen der Falx cerebri
- Angeborene Fehlbildungen
- Entwicklungsretardierung / geistige Behinderung (5%)
- U.a.m.

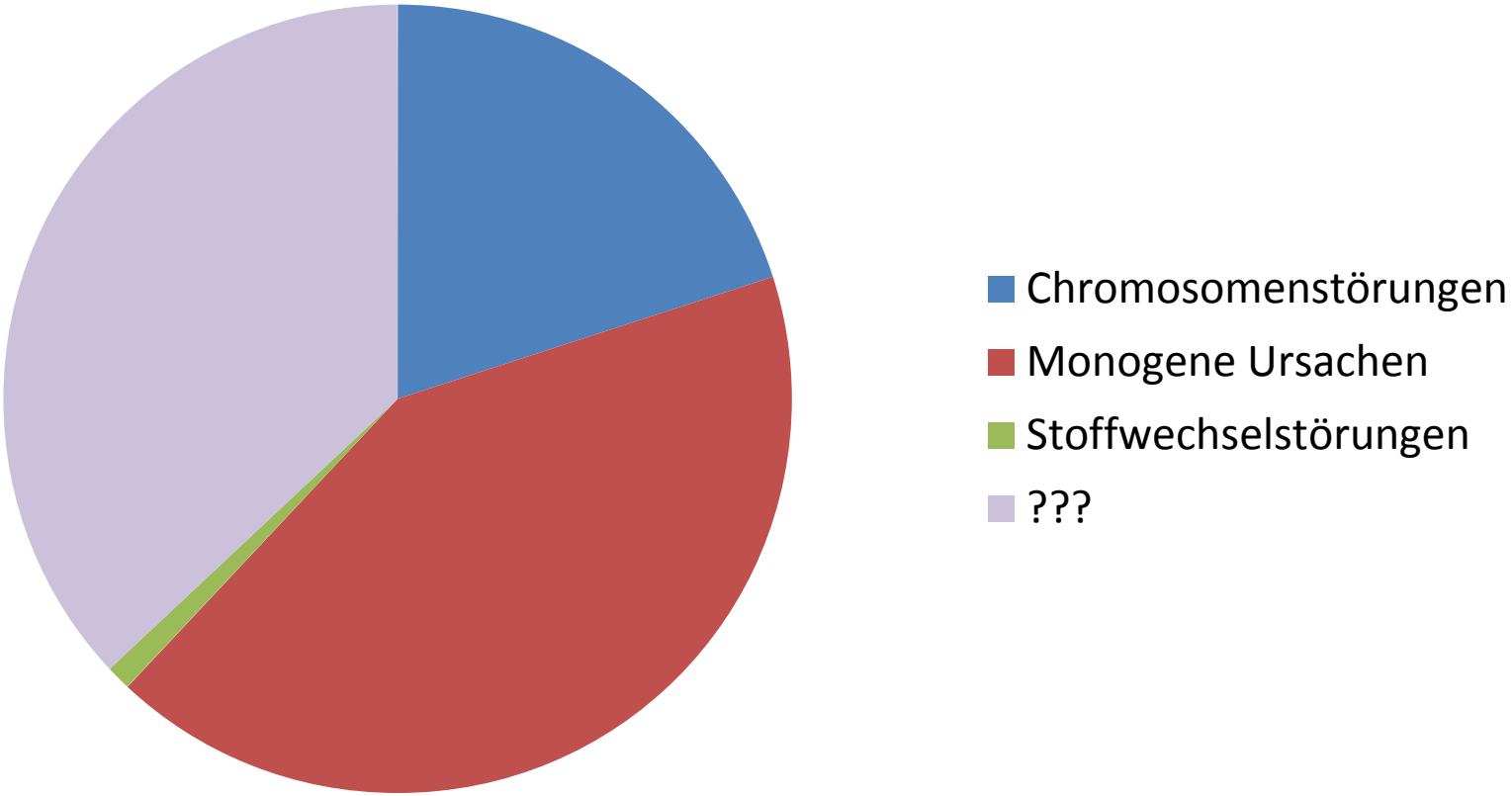
Von der Lippe et al. Tidsskr Nor Laegeforen. 2014 Jun 17;134(11):1151-4
Nilesh et al. Pan Afr Med J. 2017 Jun 7;27:96
Rehefeldt-Erne et al., Dermatology. 2016;232(3):285-92.

Grenzen von NGS

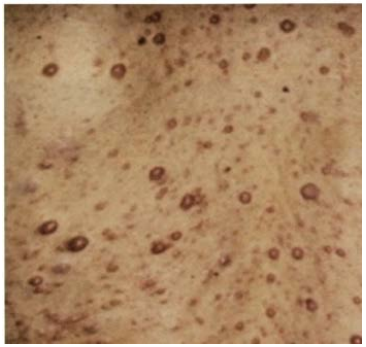
Diagnose nicht durch NGS möglich

- bei Repeat-Expansionen, z.B. **Fragile X-Syndrom**
- Bei Imprinting-Störungen nur teilweise, z.B. Angelman-Syndrom
- Bei Mosaiken nur teilweise

Ursachen von Entwicklungsstörungen und geistiger Behinderung



Immer genetische Diagnostik?



Nicht wenn kein zusätzlicher Erkenntnisgewinn

- Z.B. Neurofibromatose Typ 1 (NF 1)

Wenig Ergebnisse bei

- Lernbehinderung / leichter geistiger Behinderung und Fehlen spezifischer Merkmale
- Positiver Familienanamnese

Teils aus: NF Ratgeber des Bundesverbandes Neurofibromatose (2011)

Aufgaben des klinischen Genetikers?

- Phänotypisierung
- Methodenwahl und Befundinterpretation
- Bedeutung des Befundes für Behandlung, Prognose und Wieserholungsrisiko
- Kommunikation an Betroffene, Familien, Kollegen
- Verbindung von Diagnostik mit Grundlagenforschung