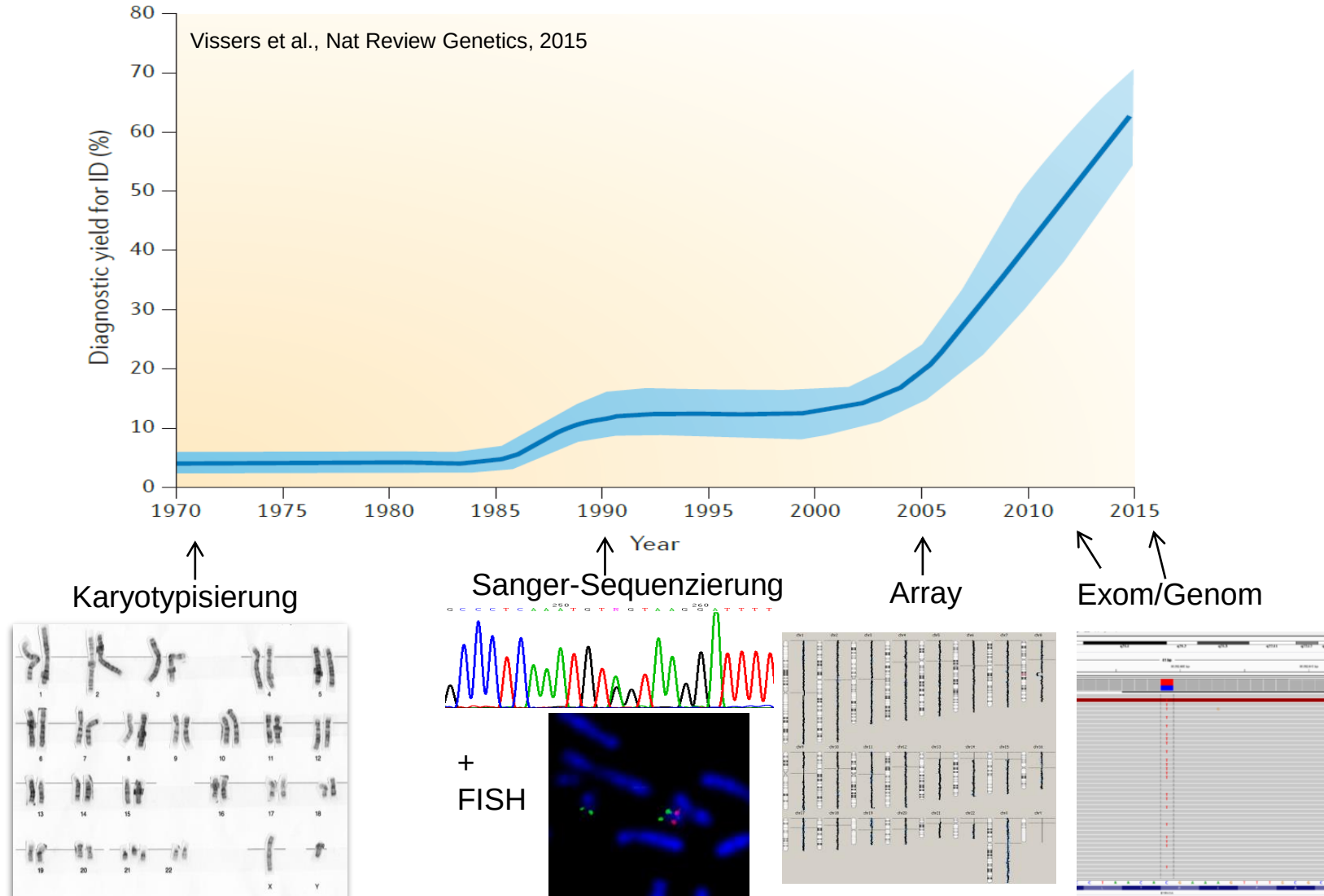


Herausforderungen der Diagnostik bei seltenen Krankheiten aus Sicht der Genetik

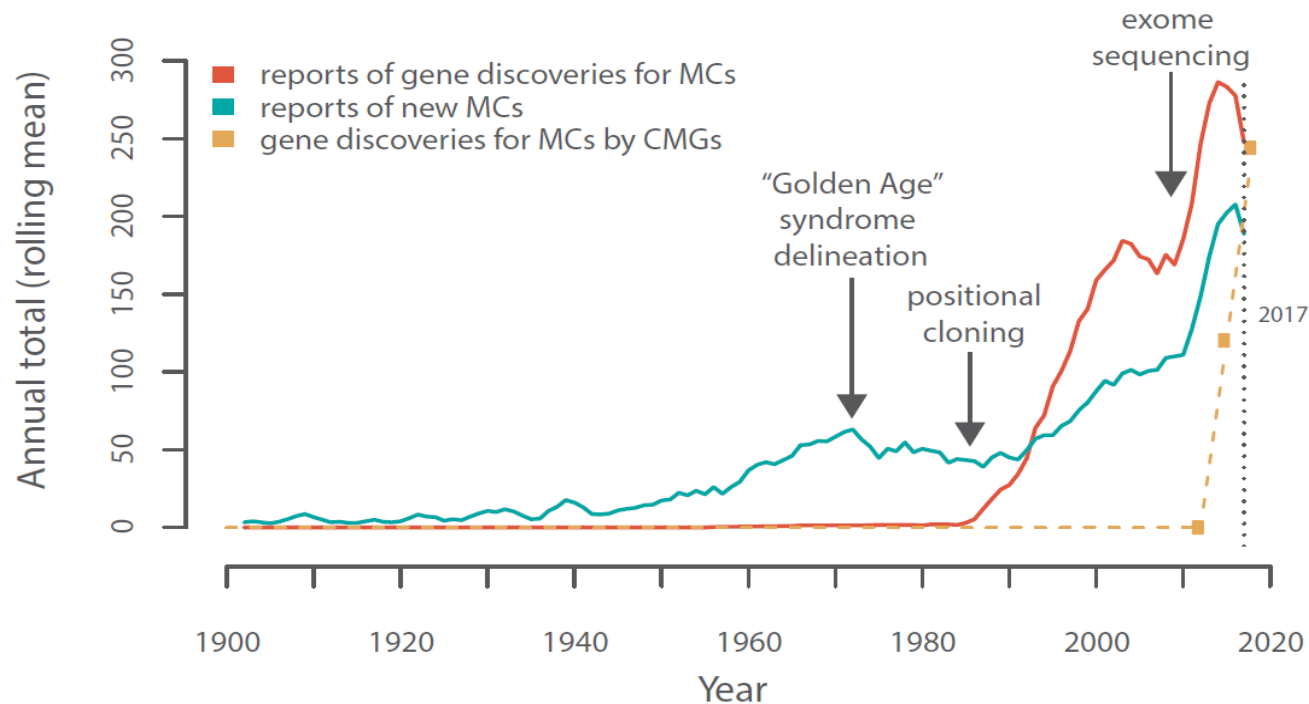
Prof. Dr. Dr. med. Christiane Zweier, Universitätsklinik für Humangenetik



Detektionsrate in der Diagnostik von Entwicklungsstörungen



Gen- und Syndromidentifizierung in den letzten Dekaden



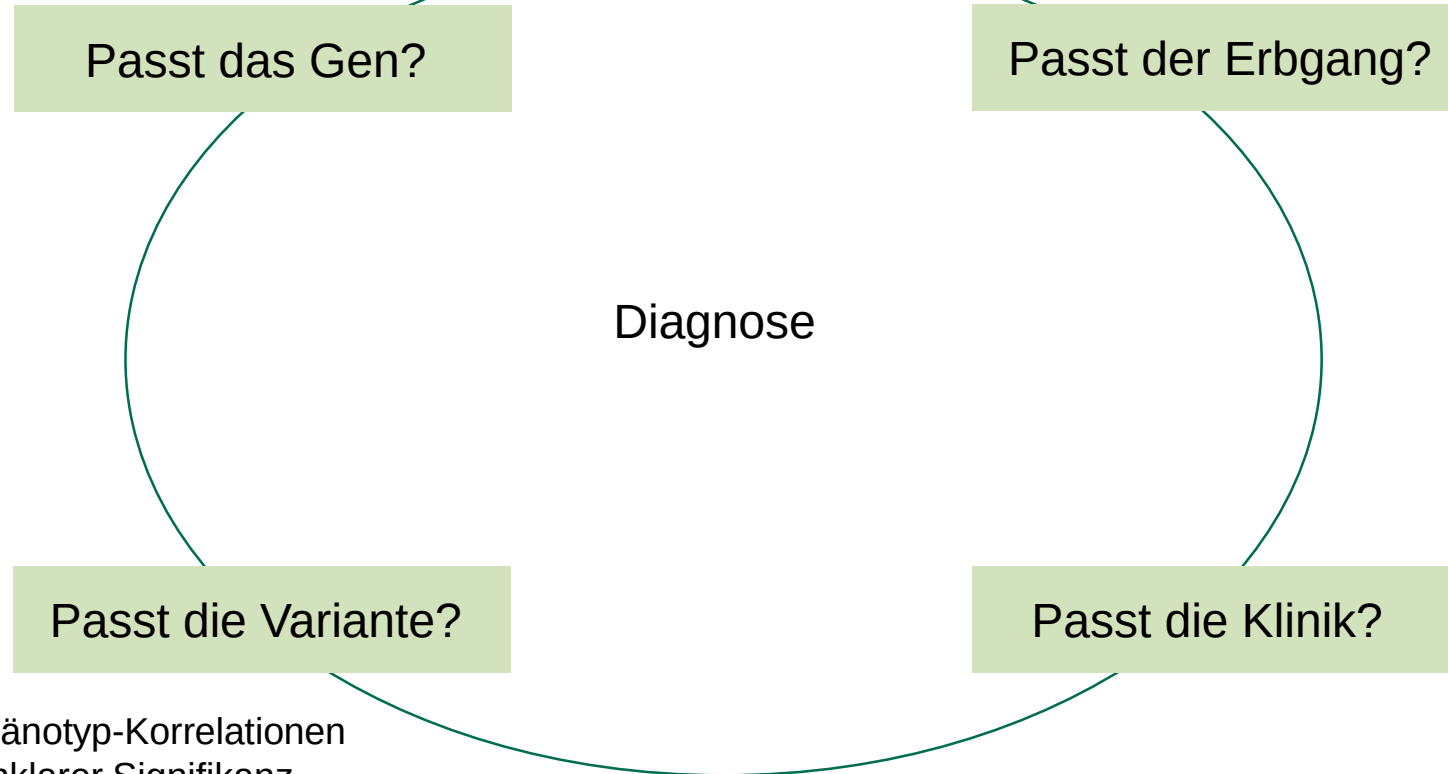
Bamshad et al., Mendelian Gene Discovery: Fast and Furious with No End in Sight, AJHG, 2019; PMID: 31491408

OMIM, May 2021: 6.065 monogene Erkrankungen, davon sehr viele selten

4 Dimensionen einer genetischen Diagnose

- Neue, bisher unbekannte Gene
- Genetische Heterogenität
- Multiple Diagnosen

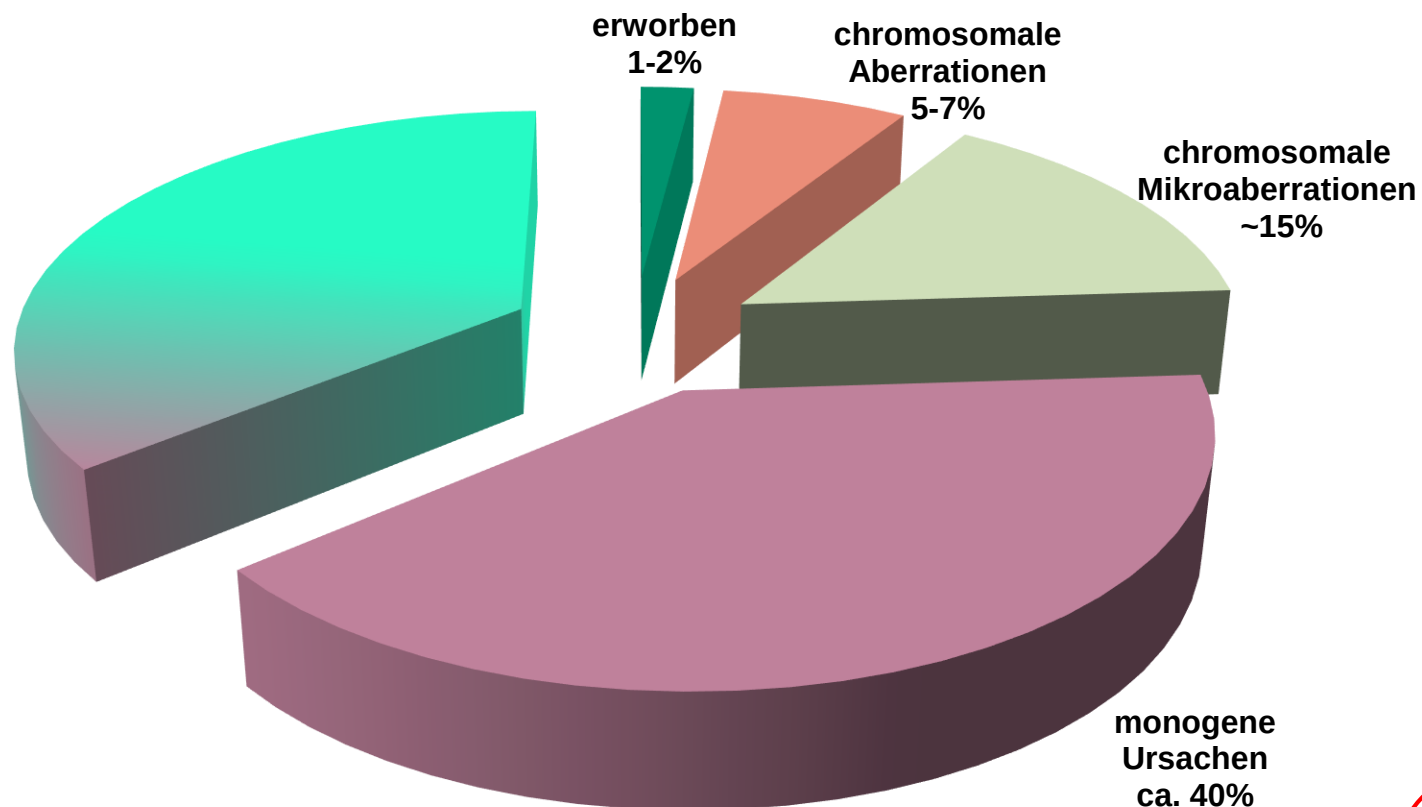
- 1 Gen – verschiedene Erbgänge



- Genotyp-Phänotyp-Korrelationen
- Varianten unklarer Signifikanz
- Verminderte Penetranz
- Mosaik

- Genotyp-Phänotyp-Korrelationen
- 1 Gen – verschiedene Krankheiten
- Erweiterung des phänotypischen Spektrums
- Variabilität und verminderte Penetranz
- Multiple Diagnosen

Herausforderung Genetische Heterogenität



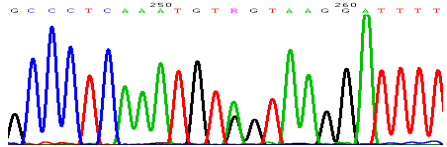
November 2021: 1534
bestätigte Gene,
> 1200 Kandidatengene

Genetische Ursachen von Entwicklungsstörungen

Monogene Ursachen für Entwicklungsstörungen

- SysID-Datenbank: <https://www.sysid.dbmr.unibe.ch/> (baldiger Nachfolger SysNDD)
- Nov 2021: **1534** bestätigte Gene und **1841** assoziierte Erkrankungen (+ 1254 publizierte Kandidatengene)
 - 972 aut-rez., 567 aut-dom. (v.a. **de novo**), 128 X-chromosomal
 - 715 Epilepsie
 - 504 Mikrozephalie
 - 439 Kleinwuchs
 - 183 Herzfehler

Identifizierung Monogene Krankheitsursachen

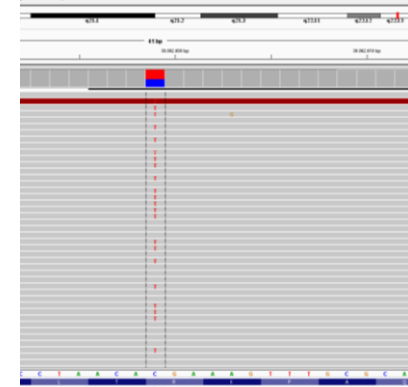


Sanger-Sequenzierung

- Einzelne Gene
- bekannte (familiäre) Mutationen



Next-Generation-Sequenzierung



- Panel-Sequenzierung (ca. 5-100 Gene)
- Klinisches Exom/Mendeliom: z.B. ~8000 bekannte Krankheitsgene
- **(Trio) Exom-Sequenzierung: alle kodierenden Genbereiche (~20.500)**
- Genom-Sequenzierung: kodierende und nicht-kodierende Bereiche

Herausforderung Varianten-Interpretation

Typisches Filterungs-Ergebnis einer Exom-Analyse

- 30.000 Varianten pro Individuum gegenüber Referenzgenom
- 25.000 bekannte (häufige) Varianten (Kontroll-Datenbanken)
- 4.900 unbekannt („privat“), aber vermutlich harmlos
- > 200 möglicherweise krankheits-relevant

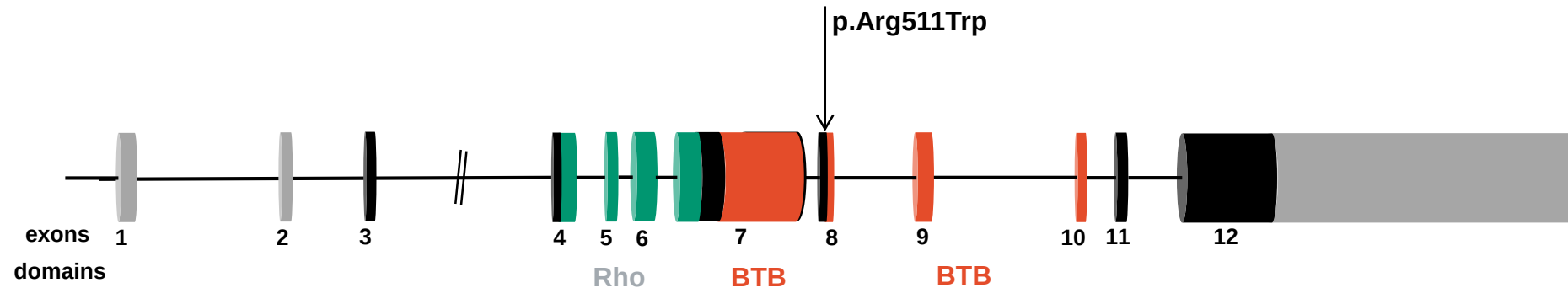
→ Weitere Filterung:

- Symptomenbasierte Genlisten (Panel-Analyse, ca. 5->100 Gene)
- **Trio-Exom Sequenzierung** (besonderer Fokus auf **de novo Varianten** (ca. 0-5 / Trio))

Herausforderung unbekanntes/neues Gen

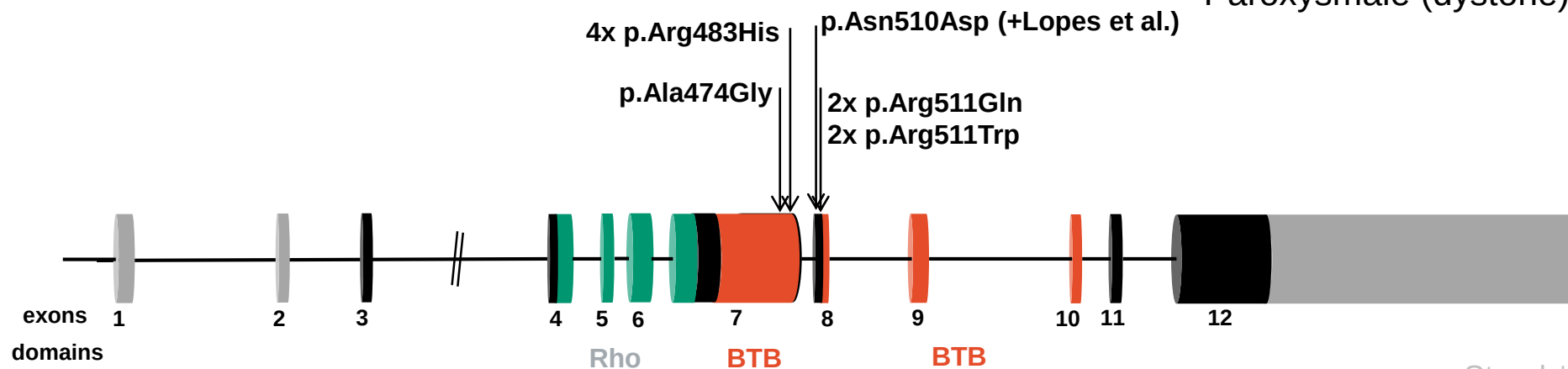
- Epilepie erstes Lebensjahr
- Schwere geistige Behinderung
- Sekundäre Mikrozephalie
- Bewegungsstörung

Trio-Exom: de novo missense Variante in RHOBTB2



Genematcher: 10 Patienten mit *de novo* **RHOBTB2**-Mutation

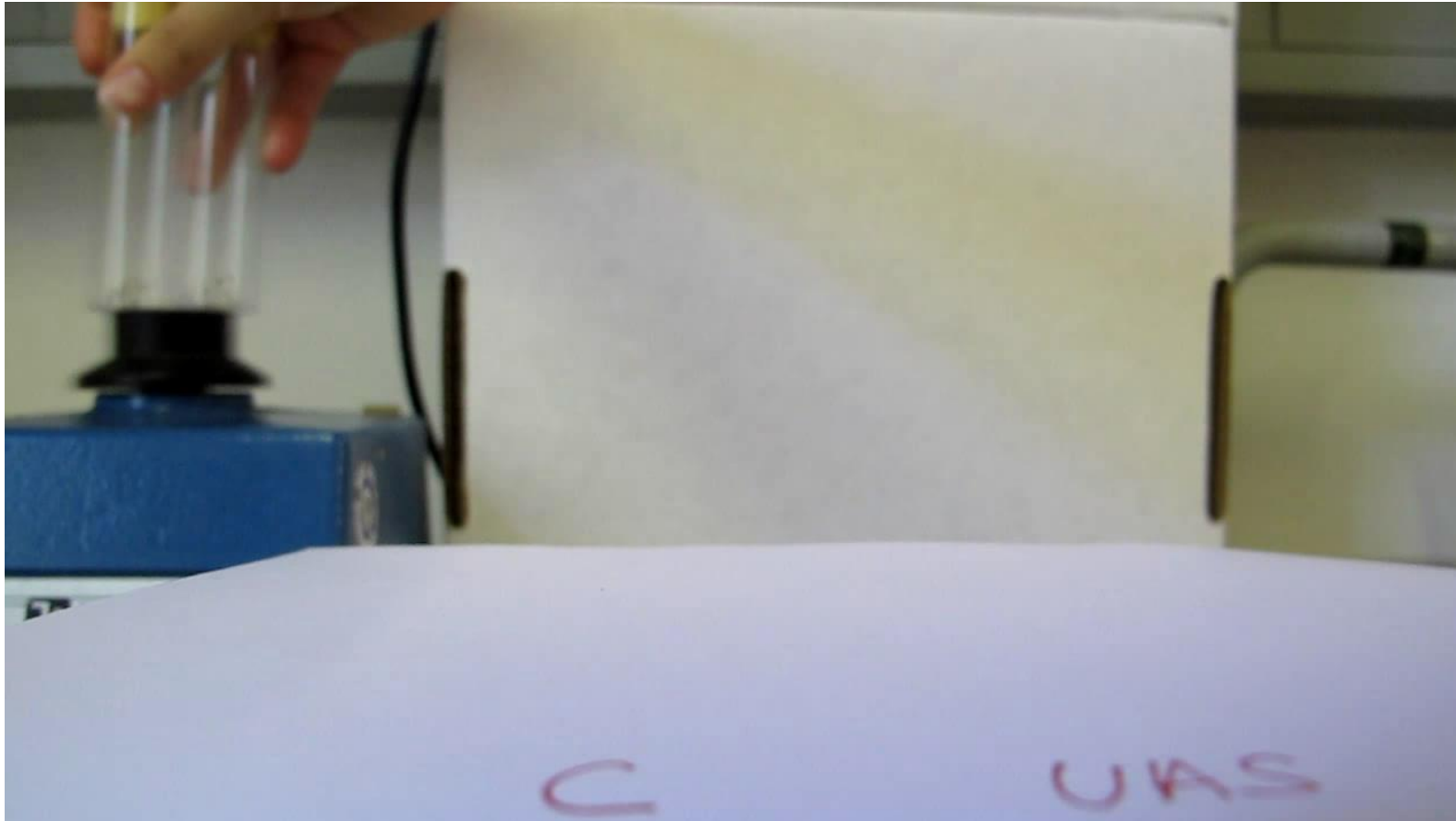
Epilepsie	10/10
Anfälle < Alter 6 Monate	8/10
Schwere geistige Behinderung	10/10
Regression	5/10
(Post-iktale) Hemiparese	4/10
Sekundäre MRT-Anomalien	3/4
Postnatale Mikrozephalie	8/10
Paroxysmale (dystone) Bewegungen	7/10



Straub*,Konrad* et al., AJHG, 2018

Modelle für Entwicklungsstörungen/Epilepsien

Bang sensitivity nach RhoBTB-Überexpression

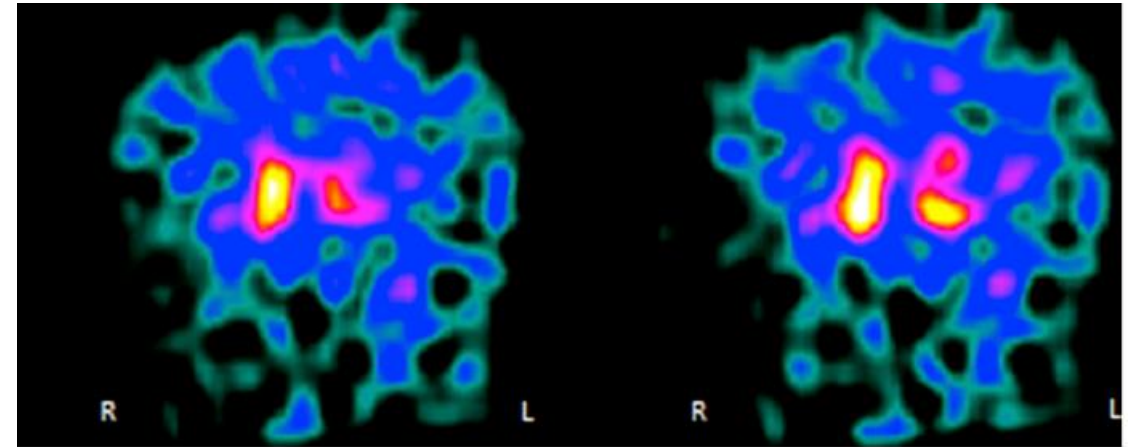


Herausforderung unbekannte Klinik

Patientin: Entwicklungsstörung und Parkinsonismus?

- Junge Frau, Ende 20
- Geistige Behinderung (Laufen 11 Jahre, kaum aktive Sprache)
- Alter 1 Jahr: Epilepsie, gut behandelbar
- Verstopfungsneigung, Makrozephalie
- >20 Jahre: progrediente muskuläre Hypertonie, Dystonie
→ Rollstuhlabhängigkeit
- Mitte 20: episodischer Tremor
- MRT o.B.
- Array o.B.

Hetzelt et al., EJMG, 2020



DaTScan: bilaterale Dopamin-Transporter-Reduktion

→ Ansprechen auf Behandlungsversuch mit L-Dopa

→ Parkinson/Dystonie-Panel: unauffällig

Trio-Exom: de novo Mutation in PPP2R5D

- PPP2R5D assoziierte Entwicklungsstörung (ca. 20 Patienten, v.a. Kinder): variable GB, Epilepsie, Makrozephalie, Autismus-Spektrum-Störung, rekurrente Missense-Mutationen
 - Ursache Parkinson?
 - Literatur: 1 (Loveday et al., 2015) + 3 (Kim et al., 2020) Fälle mit PPP2R5D-assoziierter GB und L-Dopa responsivem Parkinson (Beginn junges Erwachsenenalter)
- Bedarf: Natural Histories Seltener Erkrankungen
- Nutzen: bessere Prognose- und Behandlungsmöglichkeiten

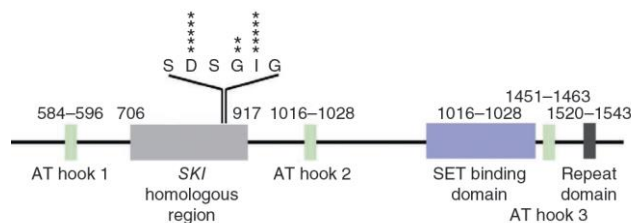
Herausforderung Genotyp-Phänotyp-Korrelationen

Hoischen et al., Nat Genet, 2010; PMID: 20436468

Schinzel-Giedion-Syndrom

- Schwere Gedeih- und Entwicklungsstörung
- Epilepsie
- Fehlbildungen
- Typische Fazies
- Versterben in den ersten zwei Lebensjahren

Spezifische Missense-Mutationen (gain-of-function?)



Rauch et al., Lancet, 2012; PMID: 23020937

Unspezifische, milde Entwicklungsstörung

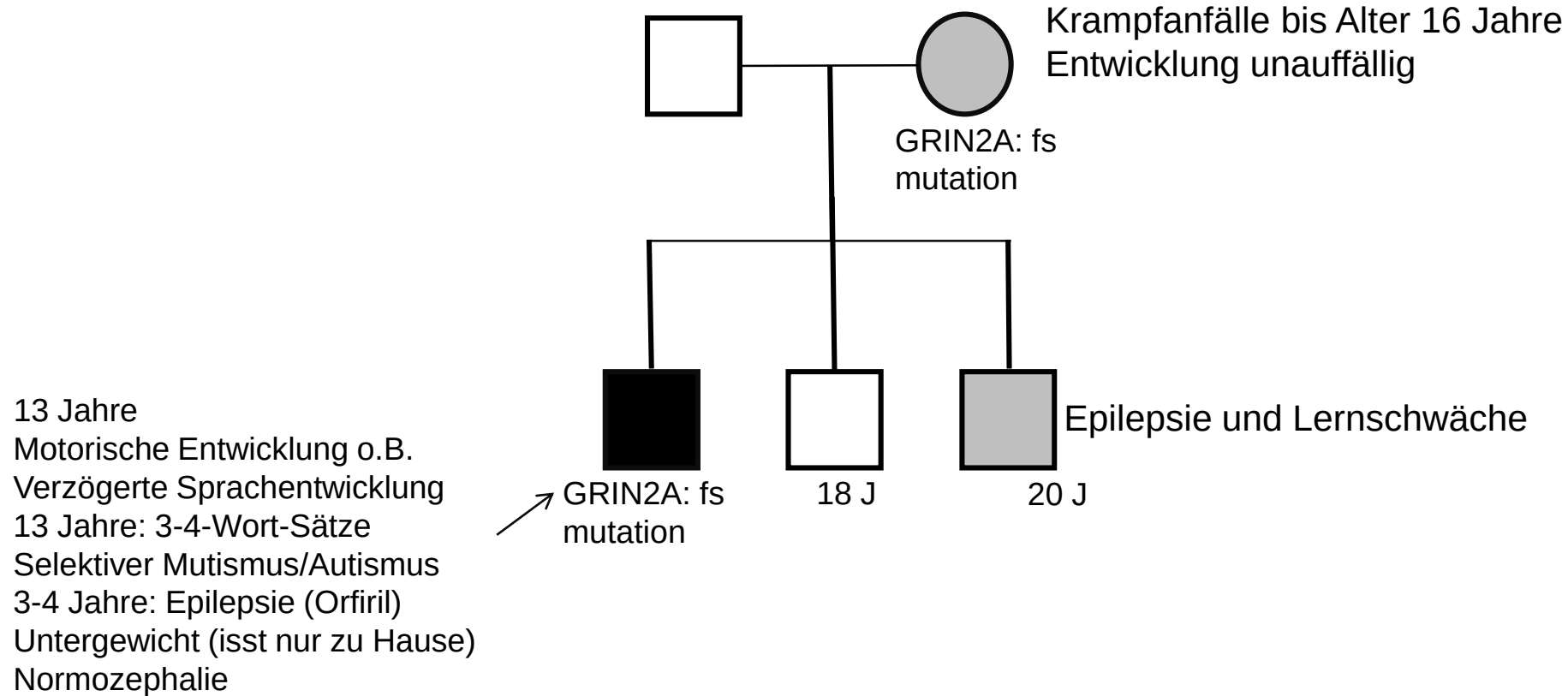
- meist milde geistige Behinderung
- Sprachentwicklungsstörung
- z.T. Epilepsie

Deletionen/trunkierende Mutationen (loss-of-function)

SETBP1

Herausforderung Variabilität

GRIN2A-assozierte Epilepsie



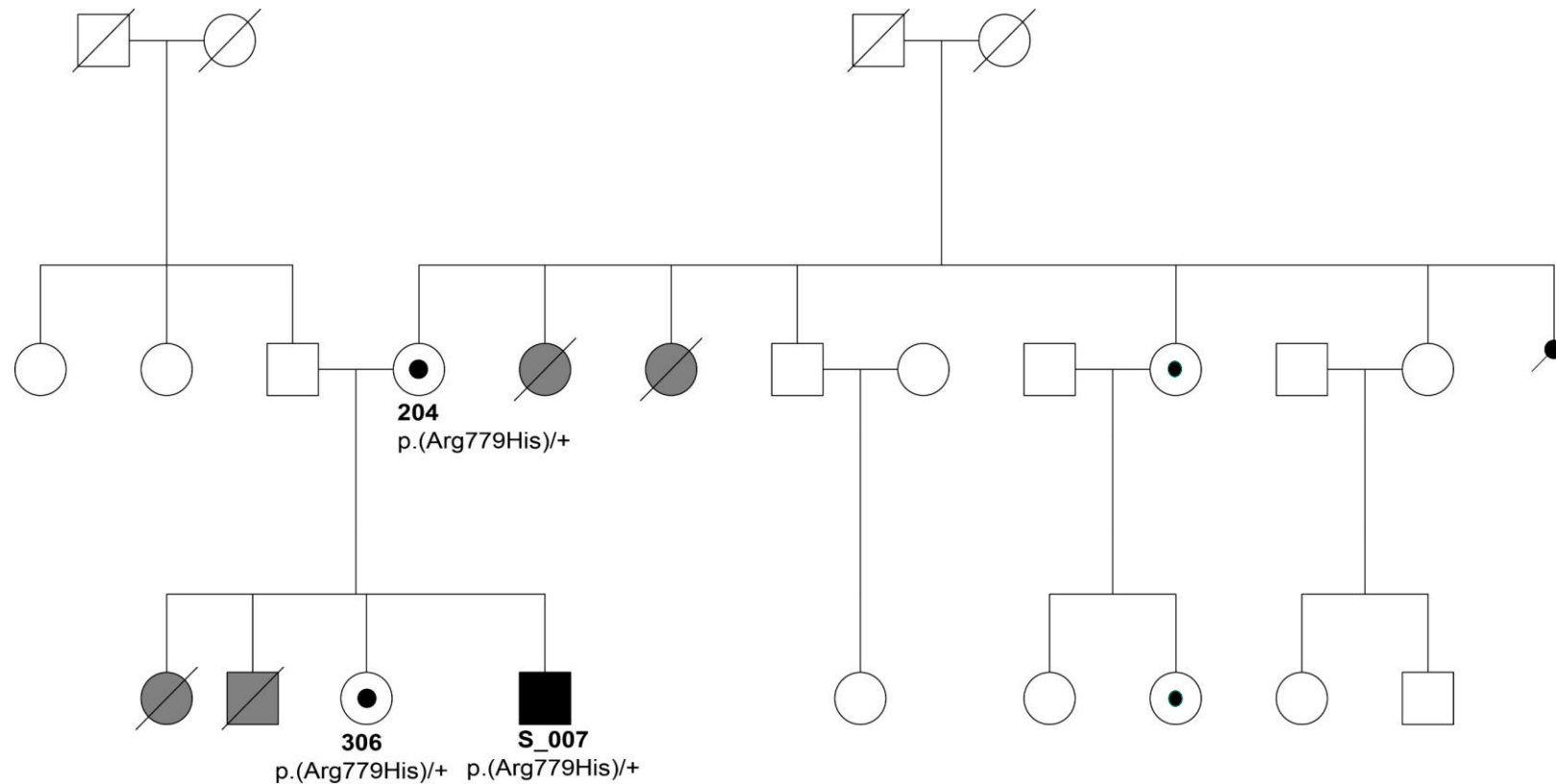
Herausforderung verminderte Penetranz

- 1. LJ: Entwicklung unauffällig
- Regression, schwere geistige Behinderung, Spastik
- Episodische Gelenkschwellungen, Sklerenikterus, Hautrötungen
- FA: zwei früh verstorbene Geschwister und Tanten
- Exom: Mutation in IFIH1 p.(Arg779His) von gesunder Mutter vererbt, aber schon als pathogen beschrieben

Aicardi-Goutieres-Syndrom 7

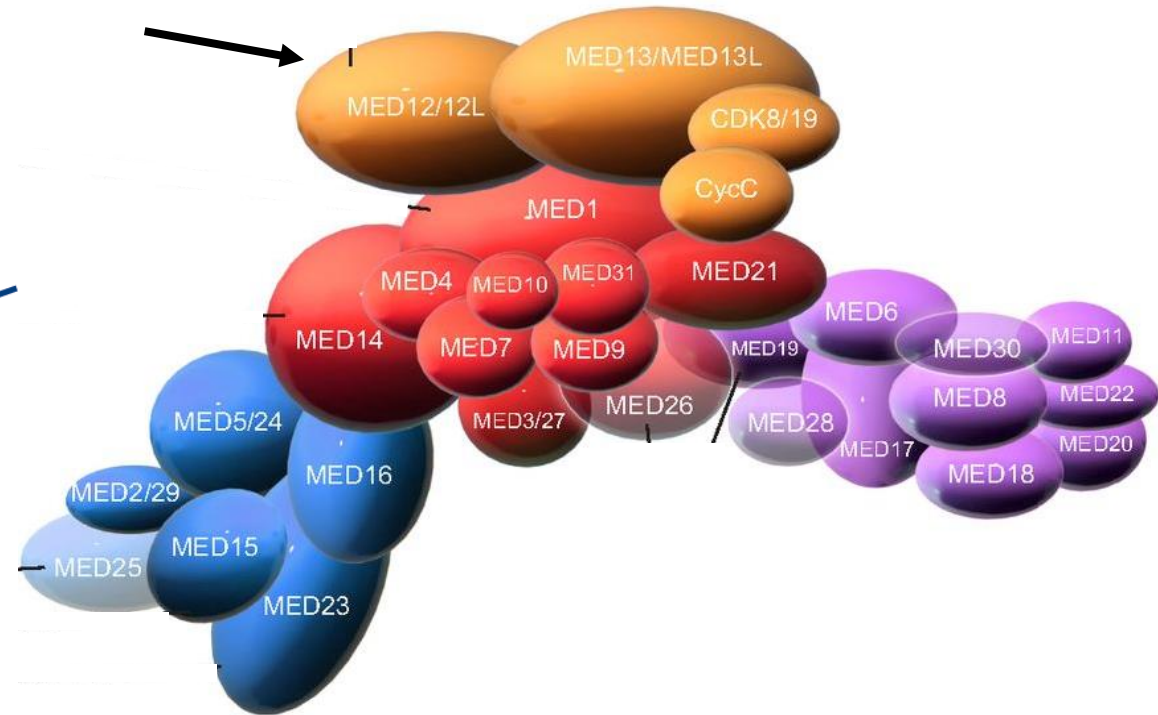
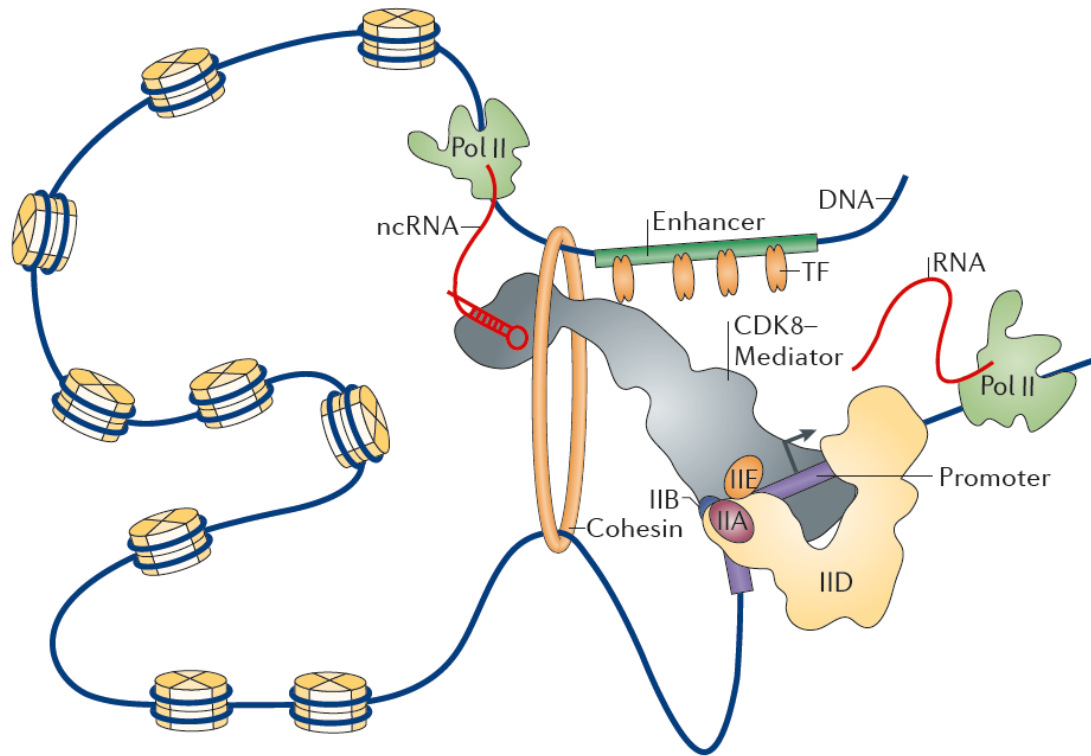
- Progrediente Enzephalopathie, z.T. nach initial unauffällige Entwicklung
- Infektionsähnliche Auffälligkeiten
- Neurologische Anomalien
- Vergrößerte Leber, erhöhte Leberwerte
- z.T. Mikrozephalie, Krampfanfälle
- MRT: Kalzifikationen, cerebrale Atrophie, Veränderungen weiße Substanz
- Liquor: Leukozytose, erhöhte Interferon-alpha und Neopterin-Werte
- Spastik, Dystonie
- Frostbeulen
- Genetisch heterogen: 7 Gene, verschiedene Erbgänge

Familie mit IFIH1-Mutation



→ Unvollständige Penetranz
(13,5% der Mutationsträger klinisch asymptomatisch (Rice et al., Hum Mutation, 2020))

***MED12* – ein Gen: verschiedene Erbgänge, verschiedene Varianten und verschiedene Krankheitsbilder**



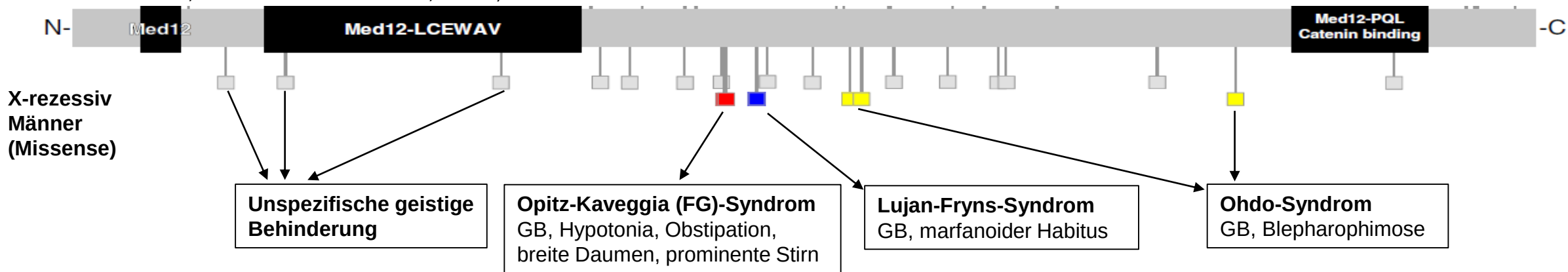
Allen and Taatjes, Nat Rev Mol Cell Biol., 2015;
PMID: 25693131

Yin and Wang, Development, 2014, PMID: 24550107

Mediator-Komplex: wichtige und vielfältige Rolle in der transkriptionellen Regulation

MED12 Missense Varianten bei Jungen/Männern

Polla et al., Genetics in Medicine, 2020; PMID: 33244165



X-rezessiv:

- Jungen/Männer erkrankt
- Weibliche Trägerinnen asymptomatisch

Graham JM and Schwarz CE, AJMG, 2013; PMID: 24123922

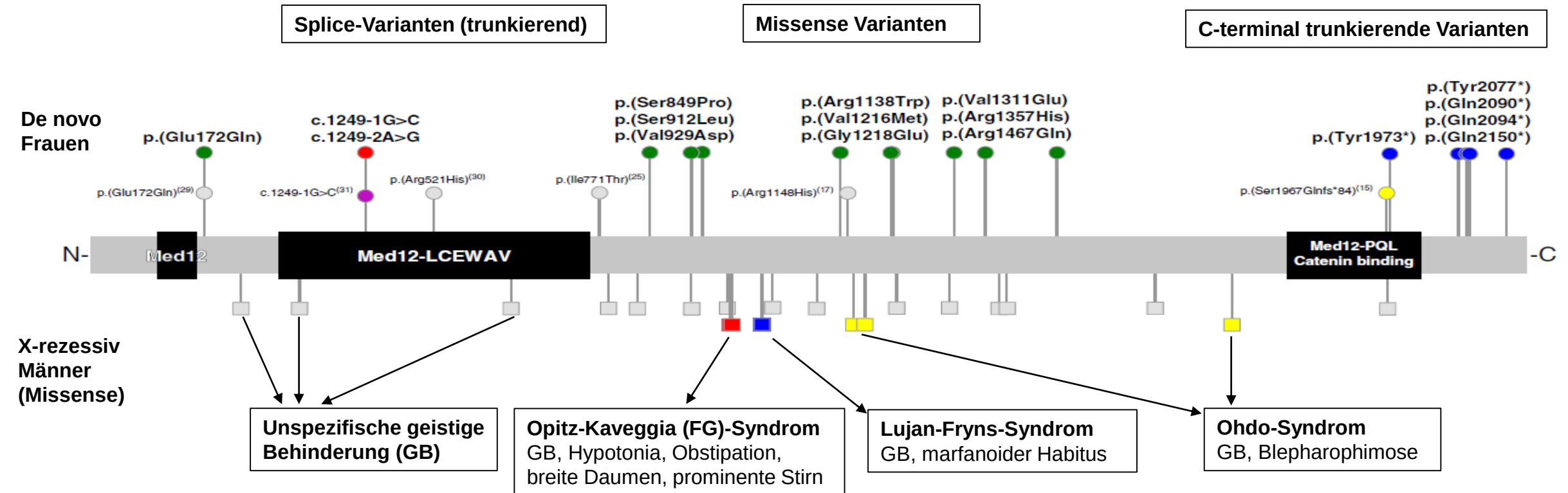
Bedeutung von *de novo* Varianten in *MED12* bei Frauen?

- Kongenitale Mikrozephalie
- Gaumenspalte, Larynxdysplasie
- Blepharophimose
- Mitral- und Trikuspidalinsuffizienz
- Progrediente Skoliose
- Hypoplasie linke Niere
- Kleinwuchs, Mikrozephalie
- Geistige Behinderung

2012: Trio-Exom: *de novo* C-terminal trunkierende Variante in *MED12*

- Falscher Erbgang?
- Falsche Mutationsart?
- Falscher Phänotyp?

MED12 *de novo* Varianten bei Mädchen/Frauen



Polla et al., Genetics in Medicine, 2020; PMID: 33244165

MED12 trunkierende Varianten bei Mädchen/Frauen

N-terminal splice

C-terminal trunkierend

- Schwere geistige Behinderung
- Blepharophimose
- Kleinwuchs
- Syndaktylien
- Variable Anomalien
- Zahnanomalien

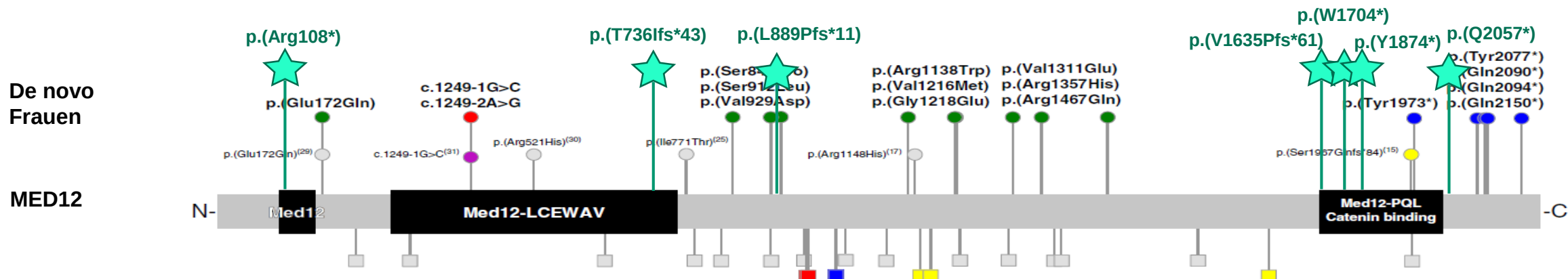
Polla et al., Genetics in Medicine, 2020; PMID: 33244165

MED12 Missense Varianten bei Mädchen/Frauen

- Schwere geistige Behinderung
- Autismus
- MRT: Corpus Callosum Anomalien
- Variable kleinere Anomalien

Polla et al., Genetics in Medicine, 2020; PMID: 33244165

MED12 trunkierende Varianten bei Mädchen/Frauen Teil 2



Hardikar-Syndrom

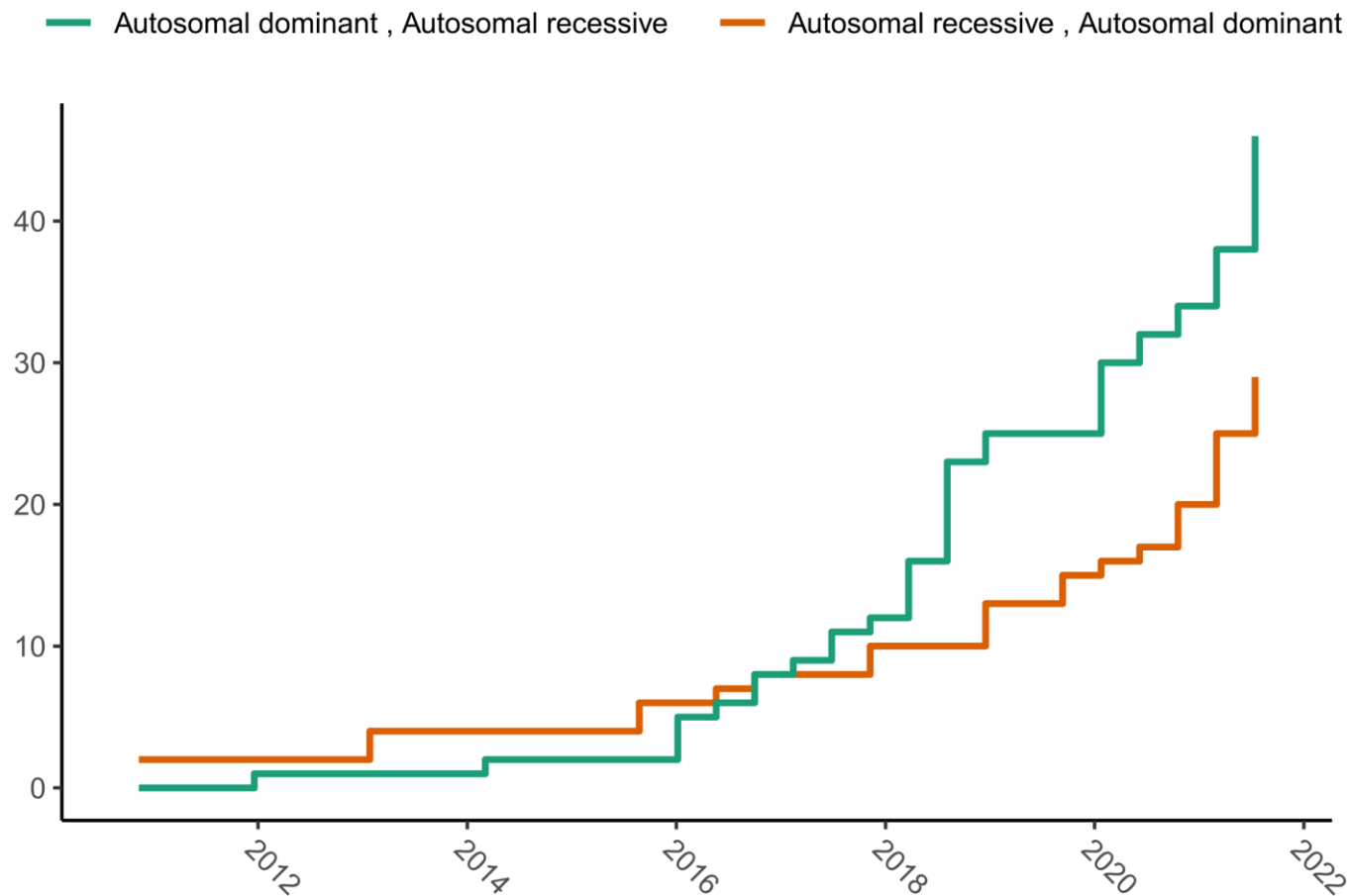
- 5/7 Retinopathie (Cat`s paw pigmentary retinopathy)
- 7/7 Unauffällige Entwicklung und Kognition
- 7/7 Lippen-Kiefer-Gaumenspalten
- 7/7 Herzfehler (v.a. Aortenisthmusstenose)
- Präaurikuläre Pits
- Gallengangsatresien/anomalien
- Intestinale Malrotationen
- Nierenanomalien

Li et al., Genetics in Medicine, 2020; PMID: 33244166

X-chromosomale Erkrankungen in beiden Geschlechtern

- Wachsende Zahl von X-chromosomalen Genen mit X-rezessiven pathogenen Varianten in Knaben/Männern und de novo pathogenen Varianten in Mädchen/Frauen
- Mögliche Faktoren für unterschiedliche Geschlechtsabhängige Ausprägung:
 - Art, Lokalisation und «Schwere» der Variante
 - X-Inaktivierung
 - Funktionelles Mosaik durch die X-Inaktivierung
 - Mosaik-Effekt (Zellinterferenz wie bei PCDH19)?

Ein Gen: autosomal-rezessiv und autosomal-dominanter Erbgang



Herausforderung Multiple Diagnosen

N Engl J Med. 2017 Jan 5;376(1):21-31.

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Resolution of Disease Phenotypes Resulting from Multilocus Genomic Variation

Jennifer E. Posey, M.D., Ph.D., Tamar Harel, M.D., Ph.D., Pengfei Liu, Ph.D.,
Jill A. Rosenfeld, M.S., Regis A. James, Ph.D., Zeynep H. Coban Akdemir, Ph.D.,
Magdalena Walkiewicz, Ph.D., Weimin Bi, Ph.D., Rui Xiao, Ph.D., Yan Ding, M.D.,
Fan Xia, Ph.D., Arthur L. Beaudet, M.D., Donna M. Muzny, M.S.,
Richard A. Gibbs, Ph.D., Eric Boerwinkle, Ph.D., Christine M. Eng, M.D.,
V. Reid Sutton, M.D., Chad A. Shaw, Ph.D., Sharon E. Plon, M.D., Ph.D.,
Yaping Yang, Ph.D., and James R. Lupski, M.D., Ph.D., D.Sc.

Retrospektive Analyse von 7374 Exom-Daten:

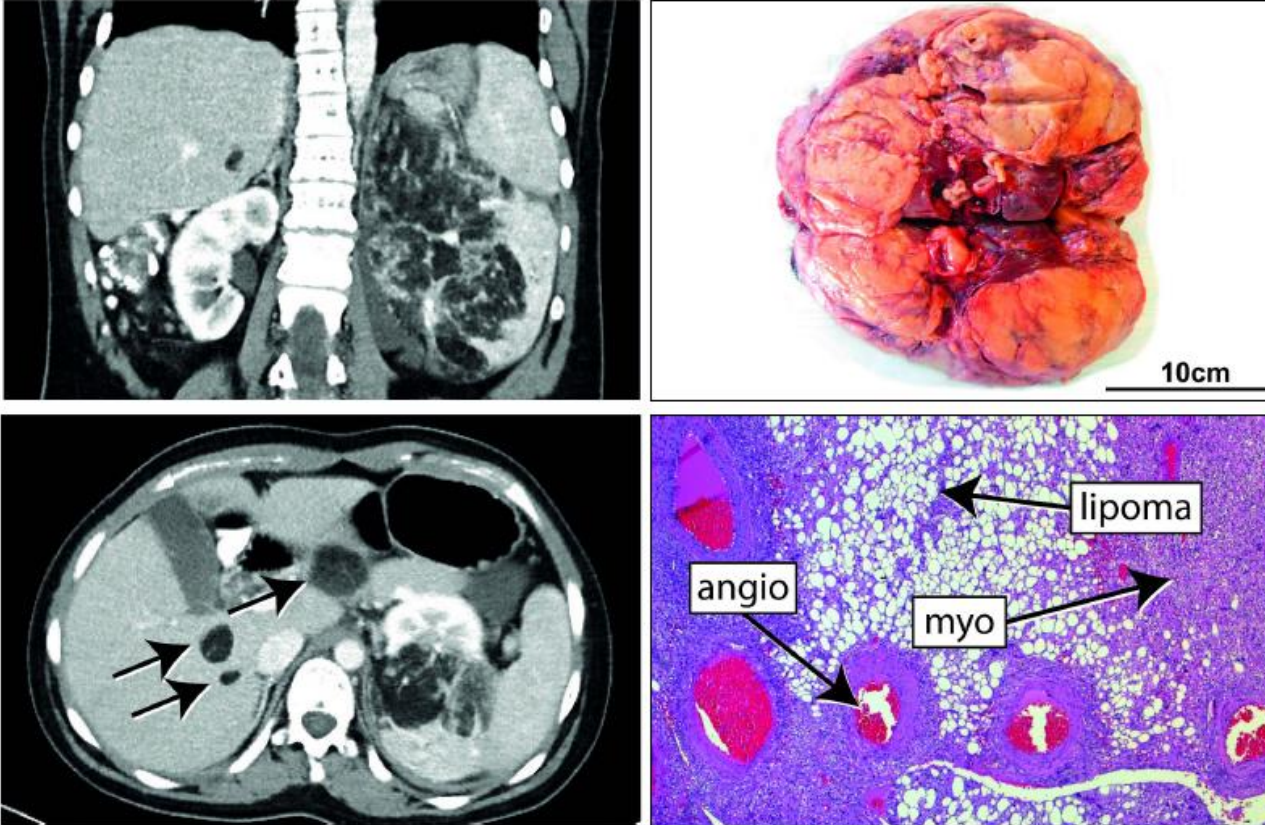
→ 4,9%: Molekulare Diagnose an 2 oder mehr Krankheitsloci

Entwicklungsstörung aufgrund einer ARID1B-Mutation

- Laufen mit 27 Monaten
 - erste Worte >5 Jahre
 - 2-3 Krampfanfälle
 - Gaumenspalte
 - mit 12 1/2 Jahren:
 - Länge <P3, OFC P25-P50
 - ca. 100 Einzelwörter, 2-Wort-Sätze
 - freundliches Verhalten
- *de novo* ARID1B-Mutation (Coffin-Siris-Syndrom oder unspezifische Entwicklungsstörung)

Patientin mit 19 Jahren: Angiomyolipome

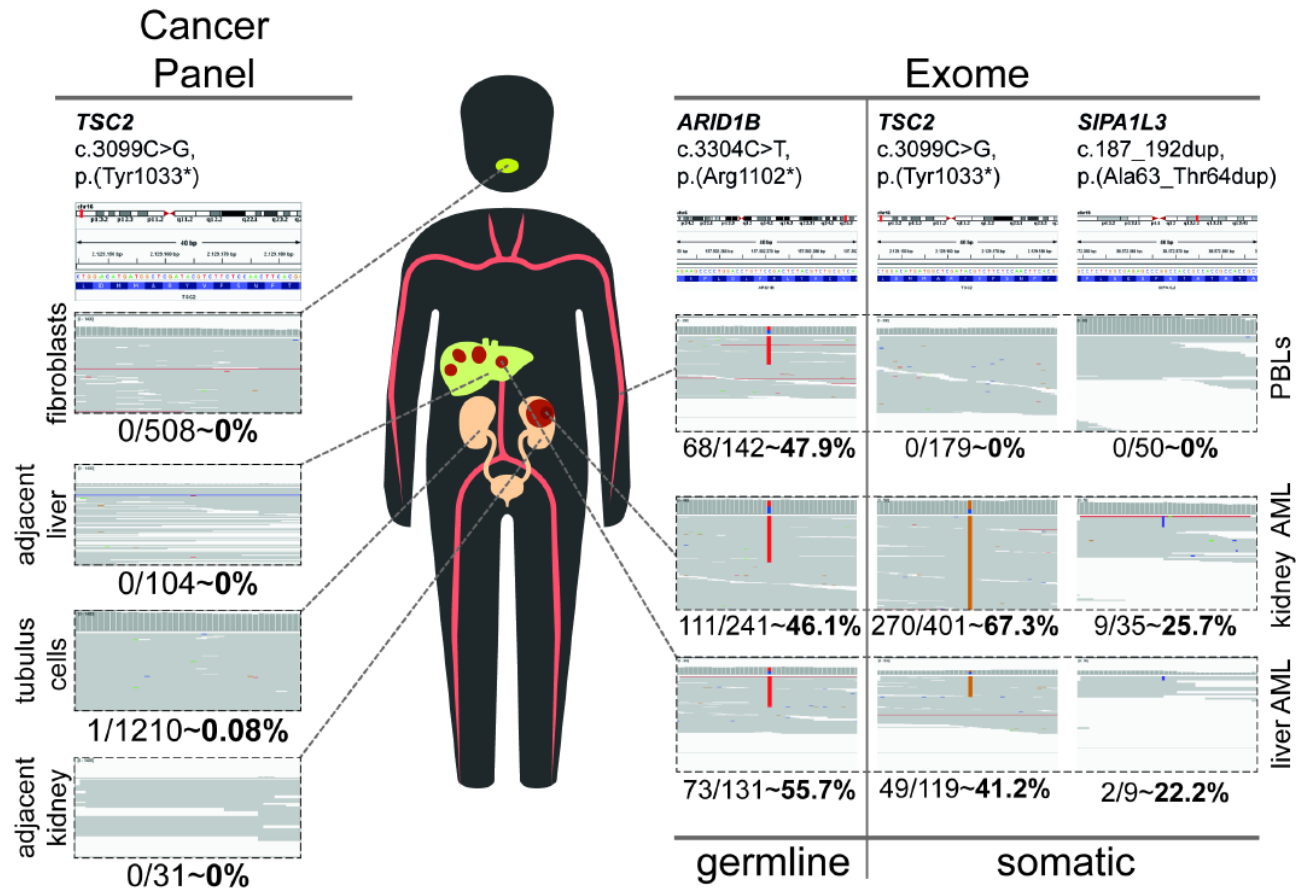
Gewichtsabnahme und Bauchschmerzen



Popp et al., BMC Cancer, 2019, DOI <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5633-1>; Creative Commons Attribution 4.0 International License

→ ARID1B assoziierte Tumoren oder zusätzlich Tuberöse Sklerose??

Somatische TSC2-Mutation in den Angiomyolipomen



-> gemeinsamer Ursprung der Nieren und Leber AMLs

Geringgradiges TSC2-Mosaik?

Herausforderung Mosaik

- Postzygotische Entstehung der genetischen Veränderung
- Genetische Veränderung betrifft nur einen Teil der Körperzellen
- Unterschiedliche Verteilung in verschiedenen Geweben
- Mosaik-Veränderung häufig im Blut nicht oder nur schwach nachweisbar

- z.B. PIK3CA assoziierte «Überwuchs»-Syndrome

MCAP-Syndrom

- Makrozephalie
- MRT: Hemimegalenzephalie, Polymikrogyrie
- Epilepsie
- Lernbehinderung, Förderschule
- Kapillare Malformationen am Körper

→ PIK3CA-Sequenzierung Blut: o.B.

→ PIK3CA-Sequenzierung Fibroblasten: Mutation in 10% der Reads nachweisbar

Zusammenfassung



- Enge Verzahnung molekularer und klinischer Beurteilung vor und nach der Analyse
- Gute interdisziplinäre Zusammenarbeit wichtig
- Nutzen einer Diagnose
 - Spezifischere Prognose, Wiederholungsrisiko, Vorsorge/Kontrolle, medizinische Versorgung, ggf. Therapie