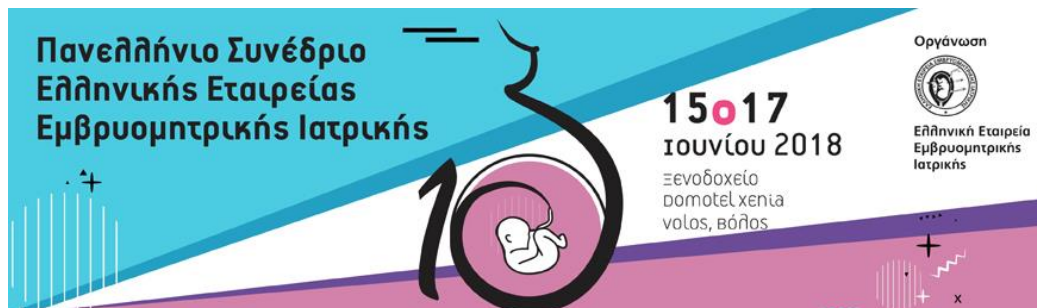


ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΣΕ ΕΜΒΡΥΑ ΜΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΜΟΡΙΑΚΟ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟ

Κ. Πάγκαλος, MD, DSc



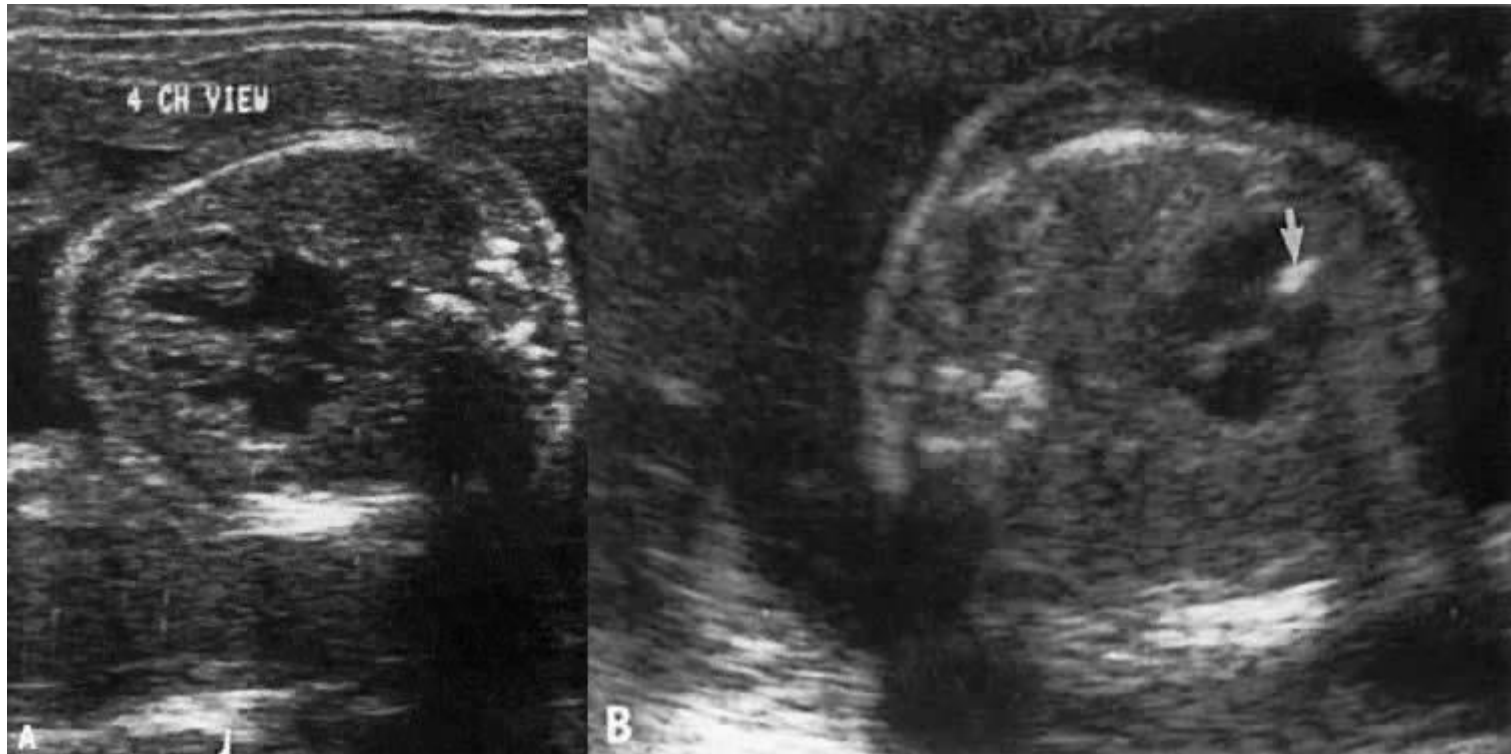
Πανελλήνιο Συνέδριο
Ελληνικής Εταιρείας
Εμβρυομητρικής Ιατρικής

15•17
Ιουνίου 2018

Ξενοδοχείο
Domotel Xenia
Volos, Βόλος

Οργάνωση
Ελληνική Εταιρεία
Εμβρυομητρικής
Ιατρικής

U/S καρδιάς εμβρύου



Καρδιομυοπάθεια

U/S εγκεφάλου εμβρύου



Μικροκεφαλία

U/S σκελετού εμβρύου



Θανατηφόρος δυσπλασία

Κορυφή ενός παγόβουνου ;



Τι κάνουμε μπροστά σε ένα παθολογικό U/S εύρημα

- Μένουμε στην **ανίχνευση-διαπίστωση** της ανωμαλίας και μόνο ;
- Μας ενδιαφέρει η **έκβαση-πρόγνωση** και με τι ακρίβεια ;
- Η πρόγνωση γίνεται με **εμπειρικά-στατιστικά** δεδομένα
- Τελικά, η συνέχιση ή όχι της κύησης **επαφείται στους γονείς**, χωρίς όμως συγκεκριμένη διάγνωση της αιτίας ;
- Πως διαχειριζόμαστε τον **αναπαραγωγικό κίνδυνο** σε επόμενες κυήσεις ;

Έκβαση ενός παθολογικού υπερηχογραφικού ευρήματος

Καλή ?

Κακή ?

*καίριο ερώτημα κατά τη διάρκεια ενός
προγεννητικού ελέγχου*

Αίτια U/S ευρημάτων και διερεύνησή τους

- **Γενετικά** (*de novo* ή κληρονομούμενα)
 - χρωμοσωματικά → **μοριακός καρυότυπος (aCGH)**
 - γονιδιακά → στοχευμένα (Sanger) ή **μαζικά (NGS)**
- **Μη-γενετικά**
 - αναγνωρισμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες
 - μικρόβια/ιοί
 - φάρμακα
 - ακτινοβολία, κ.α.
 - μη-αναγνωρισμένοι παράγοντες

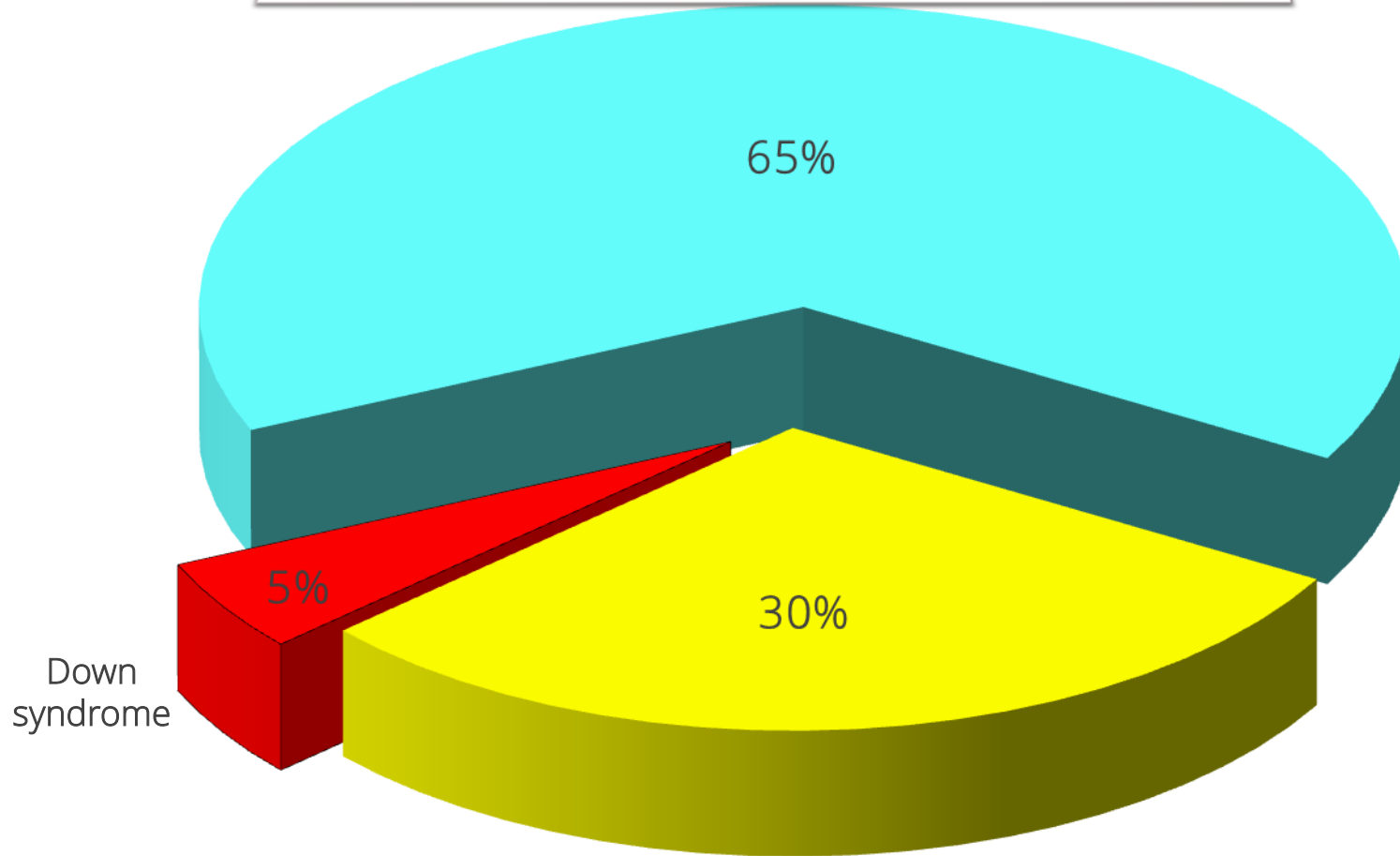
Συγγενείς ανωμαλίες στη γέννηση

Group of Conditions	Birth	Early	Chronic	Cure/1,000
	Prevalence /1,000	Mortality /1,000 (%)	Problems/1,000 (%)	(%)
Congenital Malformations	36.5	8 (22%)	8.8 (24%)	19.7 (54%)
Chromosomal Disorders	3.8	1.3 (34%)	2.4 (64%)	0.1(2%)
Genetic Risk Factor	2.6	0 (0%)	0 (0%)	2.6 (100%)
Single Gene Disorders	12.3	7.1 (58%)	3.8 (31%)	1.4 (11%)
Total	55.3	16.4 (29.8%)	15.0 (27.2%)	23.8 (43.0%)

Table 1, Birth defect prevalence and clinical outcome (The data is from Global Report on Birth Defects)

Γενετικά νοσήματα στη γέννηση

Μεταλλάξεις σε ένα ή πολλά γονίδια



Χρωμοσωματικές ανισοζυγίες ανευπλοειδισμοί, ελλείψεις, διπλασιασμοί, συμπεριλαμβανομένων CNV's που ανιχνεύουμε μεταγεννητικά

Diagnostic performance of routine ultrasound screening for fetal abnormalities in an unselected Swedish population in 2000–2005

G. ROMOSAN*, E. HENRIKSSON†, A. RYLANDER† and L. VALENTIN†

Ultrasound Obstet Gynecol 2009; 34: 526–533

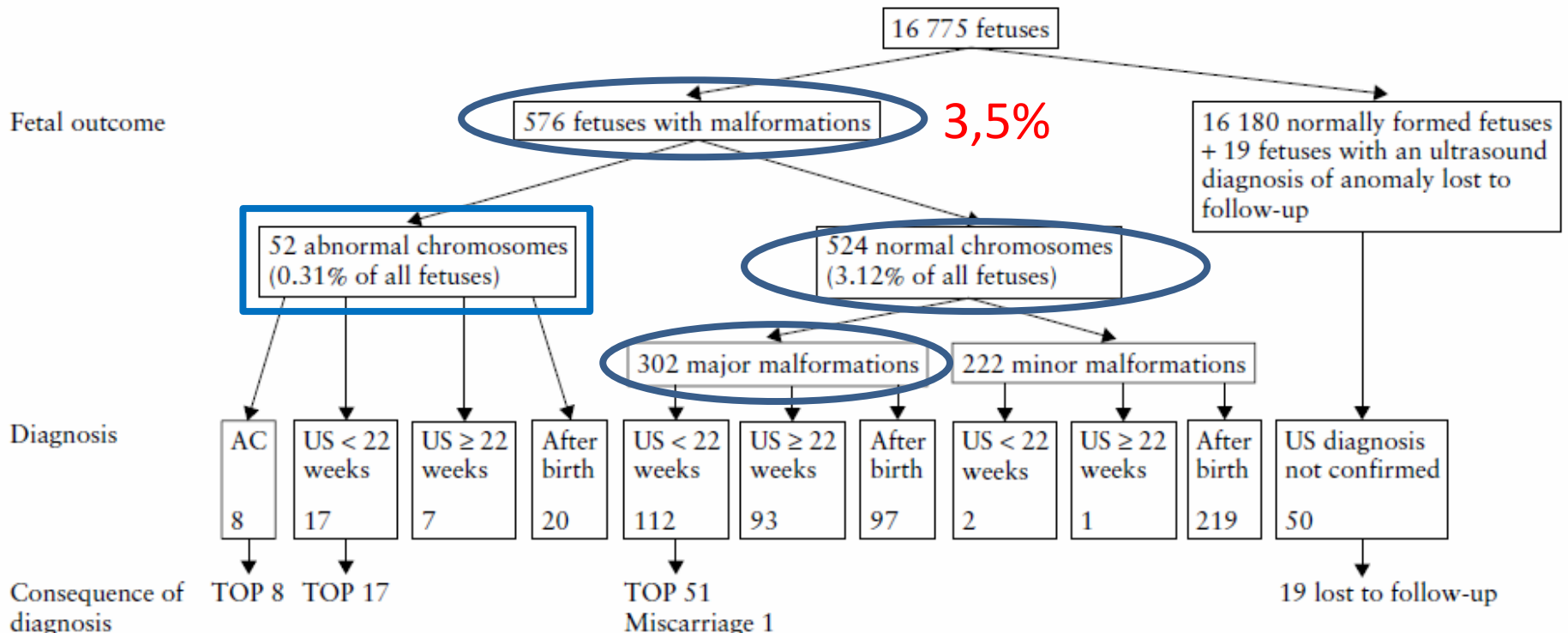


Figure 1 Schematic drawing illustrating the retrospective analysis with regard to ultrasound findings and the consequences of ultrasound findings of 16 775 fetuses that underwent routine ultrasound examination. AC, diagnosis by amniocentesis at 15–17 gestational weeks for an indication other than fetal malformation detected at ultrasound examination; TOP, termination of pregnancy; US, ultrasound; US < 22 weeks, ultrasound diagnosis of malformation at < 22 gestational weeks; US ≥ 22 weeks, ultrasound diagnosis of malformation at ≥ 22 gestational weeks.

Γενετική διαχείριση υπερηχογραφικών ευρημάτων στη κύηση

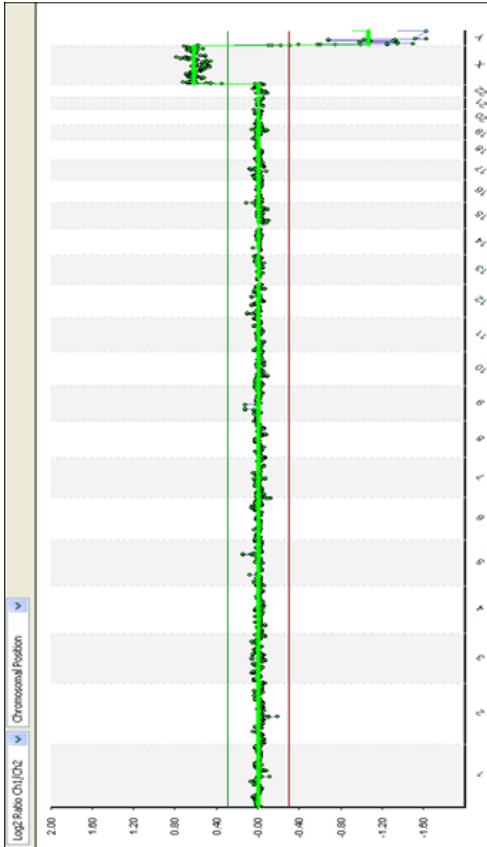
- **10-15%** χρωσωματικές ανισοζυγίες (ανευπλοειδισμοί και υπο-μικροσκοπικές ανωμαλίες - μοριακός καρυότυπος-**aCGH**)
- Σημαντικός **υπολειπόμενος κίνδυνος** για γονιδιακό νόσημα
- Πόσος είναι τελικά αυτός ο υπολειπόμενος κίνδυνος και πως θα τον διαχειριστούμε;

Hillman et al., Ultrasound Obstet Gynecol 2013;41:610-620

Χρωσωματικά αίτια

Γονιδιακά αίτια

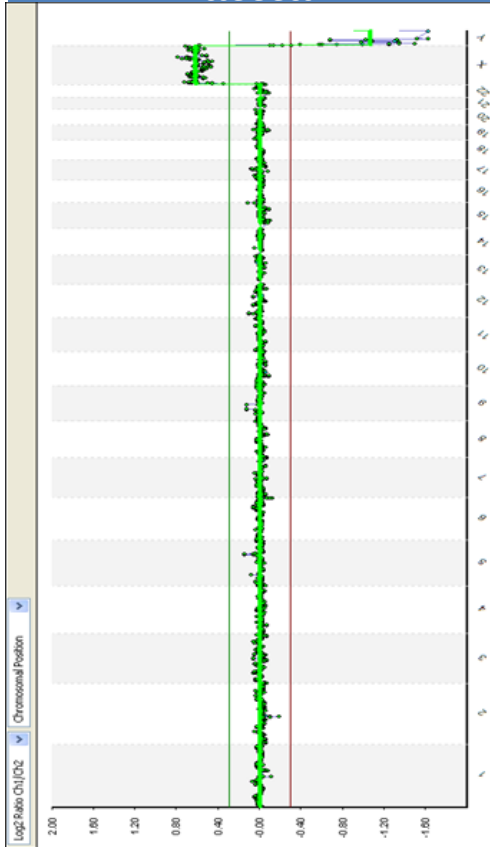
Περιβαλλοντικά αίτια



Hypoplastic left heart syndrome
Hypoplastic right heart syndrome
Endocardial fibroelastosis
Complete heart block
Supravalvular aortic stenosis
Wolff-Parkinson-White syndrome
Apert,
Noonan
Holt-Oram
Marfan
Osteogenesis imperfecta
Tuberous sclerosis
Ehlers-Danlos syndromes
Ellis-Van Creveld
Carpenter syndrome
Meckel-Gruber syndrome
Laurence-Moon-Biedl syndromes
Mucopolysaccharidosis, mucopolidosis, and
glycogenosis
Thrombocytopenia-absent radius
Duchenne muscular dystrophy
Dreifus muscular dystrophy, etc

Maternal diabetes mellitus
Phenylketonuria
Rubella
Lithium
Alcohol
Amphetamines
Hydantoin
Trimethadione

Χρωμοσωματικά αίτια



Γονιδιακά αίτια

Meckel-Gruber syndrome
Dubowitz syndrome
Roberts syndrome
Seckel syndrome
Cornelia De Lange syndrome
Coffin-Siris syndrome
Bloom syndrome
Heart and brain malformation
syndrome
Cortical dysplasia, complex, with
other brain malformations 1
Walker-Warburg syndrome
Lissencephaly (>10 types)

Περιβαλλοντικά αίτια

Alcohol
Amniopterin
Hydantoin
Maternal phenylketonuria
Rubella

Χρωσωματικά αίτια

Γονιδιακά αίτια

Περιβαλλοντικά αίτια

Ellis-van Creveld syndrome

Alcohol

Campomelic dysplasia, metaphyseal
chondrodysplasia

Amniopterin

Split-Hand-Foot syndrome

Hydantoin

Osteogenesis imperfecta

Maternal
phenylketonuria

Achondroplasia - Hypochondroplasia

Rubella

Achondrogenesis

Hypophosphatasia

Craniosynostosis syndromes

Thanatophoric dwarfism

Achondrogenesis, short rib polydactyly (Saldino-
Noonan type)

Cleidocranial cleidostosis, acrodysostosis, VATERS

Short rib polydactyly, campomelic dwarfism,
asphyxiating thoracic dysplasia (Jeune type)

Diastrophic dysplasia

Neivegelt or Langer dysplasia

U/S finding

Genetic disorder(s)

Genes

Cystic hygroma, Elevated N.T.,
Cardiac anomalies,
Macrosomia, Polyhydramnios,
Lymphoedema

Noonan syndrome

BRAF, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, PTPN11, RAF1, SHOC2, SOS1

Renal abnormalities - renal
dysplasia/agenesis

Townes-Brocks syndrome,
Duane-Radial-Ray syndrome,
Acro-renal-ocular syndrome
Renal Hypodysplasia/Aplasia 1, AR
Nephronophthisis, Renal agenesis/dysgenesis

ATRX, CHD7, DHCR7, EYA1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FGF10, FGFR2, FGFR3, GDF6, HNF1B, HOXD13, INSL3, KAL1, KCTD1, LRP4, MBTPS2, MKS1, PAX2, PROKR2, PTPN11, PUF60, RET, RPL26, RXFP2, SALL4, SEMA3E, SF3B4, TBC1D24, TBX1, TFAP2A, TP63, UPK3A, WNT3, WNT4SALL1, SALL4, EYA1, ITGA8, NPHP1, NPHP4, OCRL, PAX2, RET, SIX5, VIPAS39, VPS33B, WNT4,

Ambiguous genitalia, sex
reversal,
hypospadia

Androgen Insensitivity syndrome (AIS)
Campomelic dysplasia, 5-Alpha Reductase Deficiency,
XY Complete or Partial Gonadal Dysgenesis
17 Alpha-Hydroxylase/17,20-Lyase Deficiency
46,XY Disorder of Sex Development,
46,XY Gonadal Dysgenesis (SRY-related),
46,XY Gonadal Dysgenesis +/- adrenal insufficiency,
46,XY Gonadal Dysgenesis +/- polyneuropathy,
5-Alpha Reductase Deficiency, Adrenal Hypoplasia
Congenita (AHC), X-linked, Androgen Insensitivity
Syndrome (AIS),
Antley-Bixler Syndrome (ABS), Aromatase Deficiency,
Campomelic Dysplasia, Cytochrome P450
Oxidoreductase (POR) Deficiency, Smith-Lemli-Opitz
Syndrome, Testicular Feminization Syndrome (TFM)

CYP17A1, NR0B1, SRY, NR5A1, DHH, SRD5A2, AR, POR, CYP19A1, SOX9, DHCR7, SRD5A2, SRY, AKR1C2, ARX, ATRX, BDNF, BUB1, BUB1B, BUB3, CEP41, CEP57, COX7B, CYP11B1, CYP17A1, DHCR24, DHCR7, DYNC2H1, FRAS1, FREM2, GATA4, GRIP1, HCCS, HOXD13, HSD17B3, ICK, IFT80, IRF6, LHB, MAP3K1, MKS1, NEK1, NR0B1, NR5A1, PAX6, POR, RIPK4, SC5D, SHH, SOX3, SOX9, SRD5A2, SRY, TBX15, TNXB, TSPYL1, VANGL1, WDR34, WDR35, WDR60, WT1, WWOX,

U/S finding

Genetic disorder(s)

Genes

Skeletal dysplasias,
limb abnormalities

Achondroplasia, Hypochondroplasia,
Ectrodactyly-Ectodermal Dysplasia-Cleft
Lip/Palate (EEC),
Split Hand-Split Foot Malformation
(SHFM),
Hay-Wells syndrome, κι άλλα πολλά

*BMP2, BMPR1B, CHSY1, COL11A1, COL11A2,
COL2A1, DYNC2H1, EFN1, EVC1, EVC2,
FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF,
FANGC, FANCI, FANCL, FANCM, FGFR2, FGFR3, GDF5,
GJA1, GLI3, HOXD13, HPGD, IHH, LMBR1, LRP4,
NEK1, NOG, SKI, SLC26A2, TP63, TRIP11, TWIST,
WDR19, WDR35,*

Hydrocephalus and/or
aqueductal stenosis

X-linked hydrocephalus,
MASA syndrome,
CRASH syndrome,
and many more

*AHI1, AKT3, ALG13, ALX3, AMER1, AP1S2, ARHGAP31,
ARL13B, ARSB, ATXN10, B3GALNT2, B3GALTL, B3GAT3,
B3GNT1,
B4GALT1, B9D1, B9D2, BRAF, BRIP1, BUB1B, C5ORF42, CC
2D2A, CCDC88C, CEP290, CEP41, CLCN7, CLIC2, COL18A1,
COL4A1, COX7B, CSPP1, CTSK, DHCR24, DHCR7, DMPK,
DNAI1, DNMT3B, DOCK6, DOK7, EOGT, ERCC4, ERCC6,
ERCC8, ERF, ESCO2, EZH2, FAM111A, FAM20C, FANCA,
FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANGC, FANCI,
FANCL, FANCM, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FKR1, FKTN, FLNA,
FLT4, FLVCR2, FRAS1, FREM2, FTO, FUZ, GALT, GBA,
GFAP, GLI2, GLI3, GMPPB, GPC3, GPSM2, GRIP1, GUSB,
HCCS, HDAC6, HRAS, HYL1, ICK, IDS, IDUA, IFT172, IFT88,
INPP5E, ISPD, KDM6A, KIAA0196, KIF7,
MT2D, KRAS, L1CAM, LAMB1, LARGE, MAP2K1, MAP2K2,
MBTPS2, MED12, MIPOL1, MKS1, MMACHC,
MPDZ, MTM1, NF1, NOTCH2, NPHP1, OFD1, OGDH,
OSTM1, PALB2, PIGV, PIK3CA, PIK3R2, PLG, POMGNT1,
POMGNT2, POMK, POMT1, POMT2, PORCN, PRKAR1A,
PTCH1, PTDSS1, PTEN, PYCR1, RAD51C, RAPSN, RBPJ,
RECQL4, RNASEH2A, ROGDI, RPGRIP1, RPGRIP1L,
SF3B4, SHOC2, SKI, SLC17A5, SLX4, SMARCB1,
SMOC1, SNX10, SOX18, SOX2, SOX9, SUMF1, TBX15,
TCIRG1, TCTN1, TCTN2, TGFB1, TGFB2, TMEM138,
TMEM216,
TMEM231, TMEM237, TMEM5, TMEM67, TNFSF11, TP53, T
REM2, TRPV4, TSC1, TSC2, TYROBP,
VANGL1, VANGL2, VHL, VSX1, WDPCP, WNT3,
ZBTB24, ZIC2, ZIC3, ZNF423,*

U/S finding

Genetic disorder(s)

Genes

Cleft lip – cleft palate	Orofacial cleft 5, AD, Cleft lip/palate-Ectodermal dysplasia syndrome, Orofacial cleft 7, AR	<i>BMP4,MSX1,PVRL1,SUMO1,TBX22,TP63,UBB,</i>
--------------------------	--	--

Holoprosencephaly	Non-syndromic or syndromic holoprosencephaly	<i>SHH, SIX3, TGIF, ZIC2, GLI2, PTCH1, DISP1, FGF8, FOXH1, NODAL, TDGF1, GAS1, DLL1, CDON,</i>
-------------------	--	--

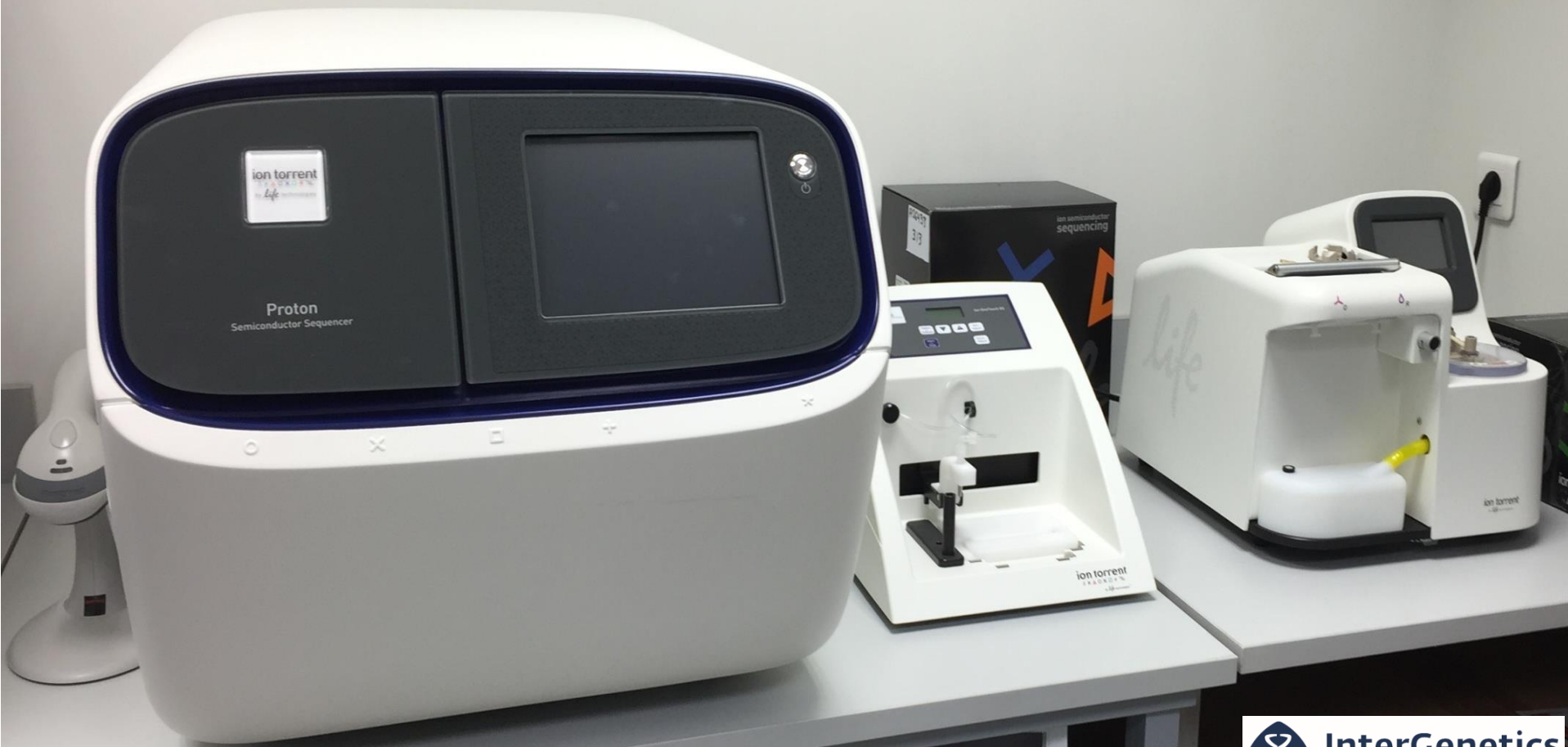
Heart abnormalities / heart dysplasias	Hypoplastic left heart syndrome, Hypoplastic right heart syndrome, Endocardial fibroelastosis, Complete heart block (AD) Supravalvular aortic stenosis (AR), Wolff-Parkinson-White syndrome, Apert, Noonan, Holt-Oram, Marfan, Osteogenesis imperfecta, Tuberous Sclerosis, Ehlers-Danlos syndromes, Ellis-Van Creveld, Carpenter, Meckel-Gruber, Laurence-Moon-Biedl syndromes, Duchenne/Becker and Dreifus muscular dystrophies	<i>COL1A1,COL1A2,COL3A1, DMD, ELN, EMD,FBLN5,FBN1, GATA4, GATA6, GDF1, GJA1,JAG1,LMNA, NKX2-5, PRKAG2, SYNE1,SYNE2, TAZ, BX1,TSC1, TSC2, ZFPM2,</i>
--	--	---

Abnormalities/dysplasia of the eyes (anophthalmia, microphthalmia)	Anophthalmia / Microphthalmia	<i>ALDH1A3,BMP4,FKTN,GDF6, MFRP,OTX2,PAX6,POMT1, POMT2 PRSS56,RAX,SOX2,VSX2, OTX2</i>
--	-------------------------------	---

IUGR	ARID1A,ARID1B,ARVCF,ASXL1,ATP6V0A2 ATP7A, ATR, ATRIP, B3GALTL, BCS1L, BLM, BMPER, BRAF, BRIP1, BUB1, BUB1B,BUB3,CCDC8,CDC6,CDKN1C,CENPJ,CEP152,CEP57, CHD7, CHRNA1, CHRND, CHRNG,COMT, CTC1,CTDP1,CUL7,DDX11,DHCR24,DHCR7, DKC1,DLL3,DNAJC19,DOK7, EIF2AK3, EMG1,EPHX1,ERCC1, ERCC2,ERCC4,ERCC5, ERCC6,ERCC8,ESCO2,EVC,EVC2,FAM111A, FAM20C, FANCA, FANCB,FANCC,FANCD2, FANCE,FANCF,FANCG,FANCI,FANCL,FANCM,FBN1,FGFR1,FGFR3,FIG4, FLNB, FLVCR2, GBA,GCK, GDF1,GFM1,GLI3,GLIS3,GP1BB,HDAC6,HDAC8,HES7,HIRA,HMGA2,HOXD13,
------	--

Σημερινοί τρόποι διερεύνησης γονιδιακών μεταλλάξεων

- Ανάλυση όλων των γονιδίων του ανθρώπου –
Whole Genome Sequencing (WGS)
- Ανάλυση όλων των εξονίων των γονιδίων του ανθρώπου –
Whole Exome Sequencing (WES)
- Κλινικό WES – Ανάλυση συγκεκριμένων γονιδίων κλινικών οντοτήτων –
Multi-gene exome sequencing (NGS panels)
- Στοχευμένη αλληλούχιση κατά Sanger –
Targeted gene sequencing - Sanger



ion torrent
by life

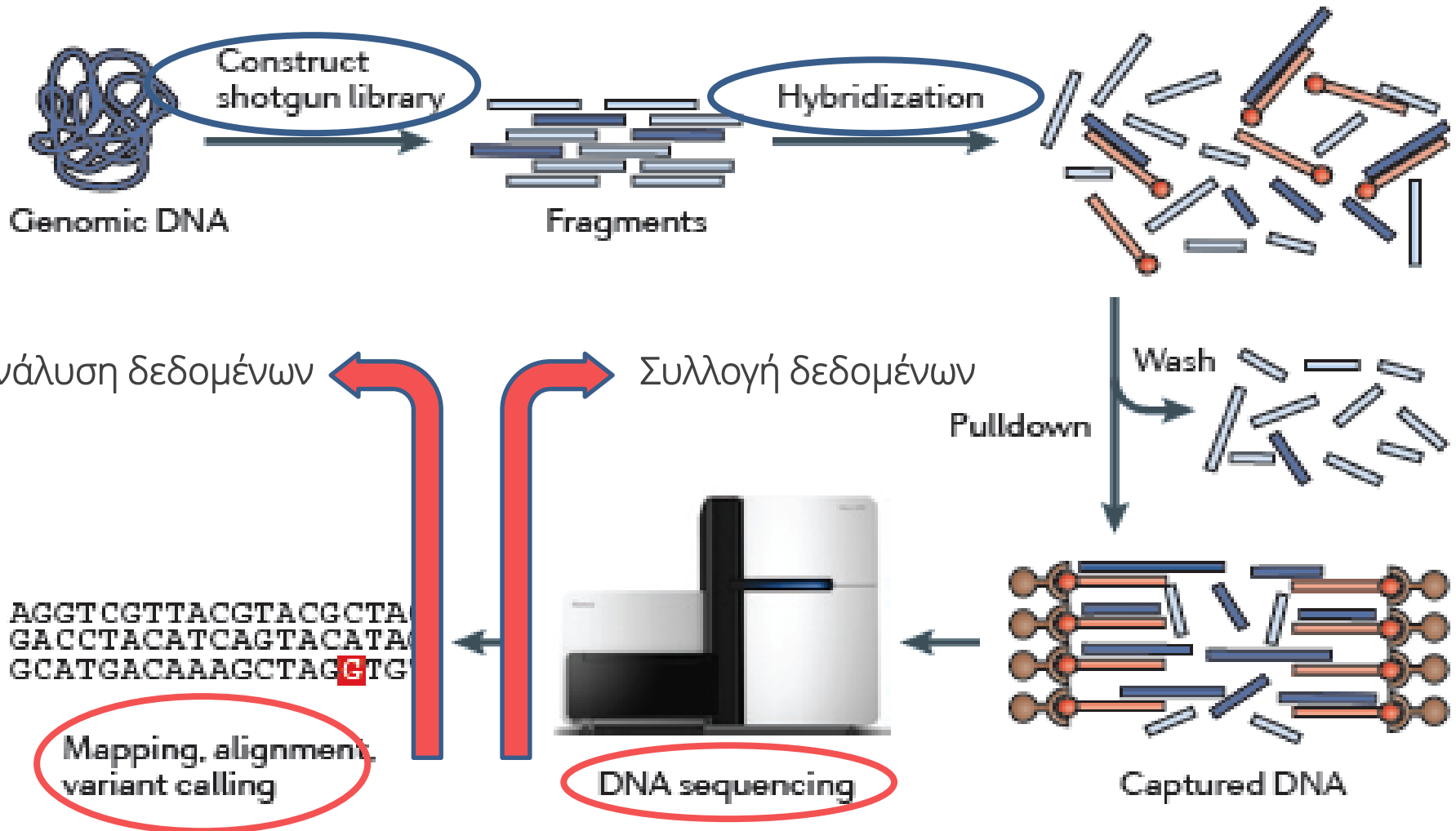
Proton
Semiconductor Sequencer

ion semiconductor
sequencing

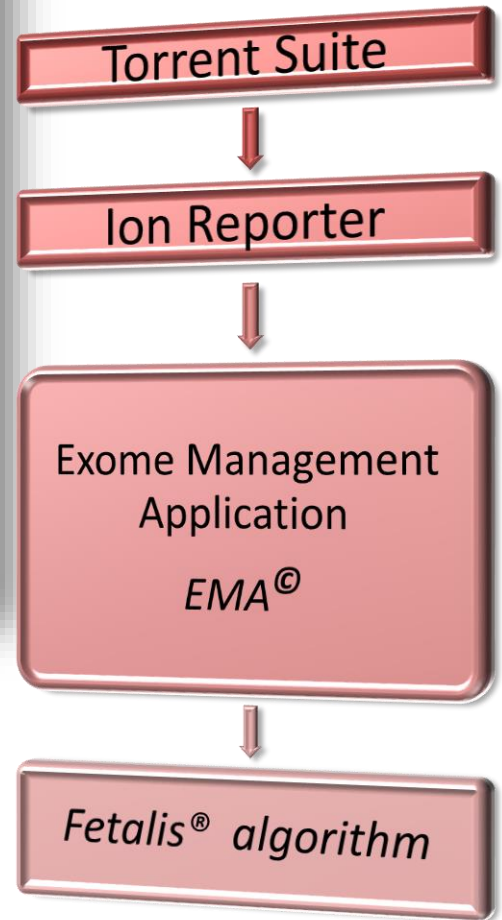
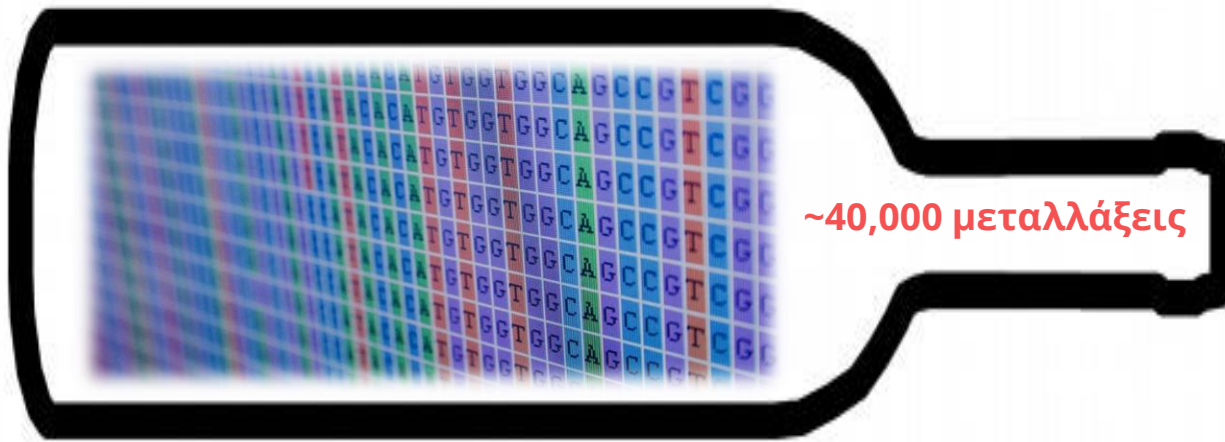
life

ion torrent

Τα τεχνικά στάδια του WES



Ειδικά εργαλεία βιο-πληροφορικής



Γιατί μία μετάλλαξη
είναι αρκετή για
ν'αλλάξει αυτό....



.. σε



Τι προσφέρει η ανάλυση NGS

- Υψηλότερη **διαγνωστική ευαισθησία** σε σύγκριση με τις 'κλασσικές' προσεγγίσεις
- Παράλληλη ανάλυση **πολλαπλών γονιδίων**
- Παράλληλη ανάλυση **πολλαπλών δειγμάτων**
- Ανίχνευση **ΟΛΩΝ** των πιθανών **μεταλλάξεων** κι ΟΧΙ περιορισμένο – στοχευμένο έλεγχο
- Σαφώς **οικονομικότερη** προσέγγιση

Τεστ *Fetalis*[®] - επιλογή ~760 γονιδίων

- Σύνθετα εργαλεία βιοπληροφορικής
- **Data mining** από διάφορες βάσεις δεδομένων (OMIM, Ultrasound Diagnosis of Fetal Anomalies, ClinVar, κ.α.)
- **Επιλογή γονιδίων** και αντίστοιχων γενετικών νοσημάτων-συνδρόμων, που είναι δυνατόν (όχι πάντα) να εκδηλώσουν **αναγνωρίσιμα** και **προβληματικά** υπερηχογραφικά ευρήματα στο 1^ο ή στο 2^ο τρίμηνο της κύησης
- Τα παραπάνω γονίδια **διασταυρώθηκαν** με περισσότερα από **500** γονίδια, που είναι γνωστό ότι συνδέονται με σοβαρά **παιδιατρικά** νοσήματα

Κατηγορίες ευρημάτων – μεταλλάξεων (variant classification)

1. Γνωστές παθογόνες μεταλλάξεις, που έχουν προηγουμένα αναφερθεί σε ασθενείς ή/και υπάρχουν καταχωρημένες σε σχετικές βάσεις δεδομένων (mutation databases – π.χ. HGMD) ✓
2. Γνωστές παθογόνες μεταλλάξεις, με μεταβλητή διεισδυτικότητα και εκφραστικότητα, σχετιζόμενες με υψηλό κίνδυνο για τη νόσο ✓ / ?
3. Γνωστές μη-παθολογικές αλλαγές/μεταλλάξεις (benign variants) ✗
4. Νέες 'υποχρεωτικά παθογόνες' μεταλλάξεις, με μεγάλο βαθμό βεβαιότητας (π.χ. truncating nonsense mutations, frameshifts, indels, consensus splice-site) ✓
5. Νέες μεταλλάξεις, εκτιμώμενες ως πιθανά παθολογικές μετά από σύνθετη *in silico* ανάλυση (SIFT, PolyPhen, κλπ.)
6. Νέες μεταλλάξεις, εκτιμώμενες ως μη-παθολογικές μετά από σύνθετη *in silico* ανάλυση (SIFT, PolyPhen, κλπ.)

} V
O
U
S

Κατηγορίες ευρημάτων – μεταλλάξεων (variant classification)

1. **Γνωστές παθογόνες μεταλλάξεις**, που έχουν προηγουμένα αναφερθεί σε ασθενείς ή/και υπάρχουν καταχωρημένες σε σχετικές βάσεις δεδομένων (mutation databases – π.χ. HGMD) ✓
2. **Γνωστές παθογόνες μεταλλάξεις**, με μεταβλητή **διεισδυτικότητα** κι εκφραστικότητα, σχετιζόμενες με υψηλό κίνδυνο για τη νόσο ✓?
3. Γνωστές μη-παθολογικές αλλαγές/μεταλλάξεις (benign variants)
4. **Νέες 'υποχρεωτικά παθογόνες' μεταλλάξεις**, με **μεγάλο βαθμό βεβαιότητας** (π.χ. truncating nonsense mutations, frameshifts, indels, consensus splice-site) ✓
5. **Νέες μεταλλάξεις**, εκτιμώμενες ως **πιθανά παθολογικές** μετά από σύνθετη *in silico* ανάλυση (SIFT, PolyPhen, κλπ.) ✓?
6. Νέες μεταλλάξεις, εκτιμώμενες ως **μη-παθολογικές** μετά από σύνθετη *in silico* ανάλυση (SIFT, PolyPhen, κλπ.)



First applications of a targeted exome sequencing approach in fetuses with ultrasound abnormalities reveals an important fraction of cases with associated gene defects

Constantinos Pangalos^{1,2}, Birgitta Hagnfelt², Konstantinos Lilakos³ and Christopher Konialis^{1,2}

¹ Genomix Ltd, London, United Kingdom

² InterGenetics–Diagnostic Genetic Centre, Athens, Greece

³ Department of Haematology, “Laskon” General Hospital - University of Athens Medical School, Athens, Greece

Submitted 17 February 2016

Accepted 30 March 2016




Published 26 April 2016

How to cite this article Pangalos et al. (2016), First applications of a targeted exome sequencing approach in fetuses with ultrasound abnormalities reveals an important fraction of cases with associated gene defects . PeerJ 4:e1955; DOI 10.7717/peerj.1955



InterGenetics
ΚΕΝΤΡΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ & ΓΕΝΩΜΙΚΗΣ

In case you missed it: the *Prenatal Diagnosis* editors bring you the most significant advances of 2016

Tim Van Mieghem¹ , Diana W. Bianchi² , Brynn Levy³, Jan Deprest⁴, Lyn S. Chitty^{5,6} and Alessandro Ghidini⁷ 

¹Department of Obstetrics and Gynaecology, Mount Sinai Hospital and University of Toronto, Toronto, Canada

²Mother Infant Research Institute at Tufts Medical Center, Boston, MA, USA

³Department of Pathology and Cell Biology, Columbia University, New York, NY, USA

⁴Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospitals Leuven, Leuven, Belgium

⁵North Thames NHS Genomic Medicine Centre, Great Ormond Street NHS Foundation Trust, London, UK

⁶Genetics and Genomic Medicine, UCL Great Ormond Street Institute of Child Health, London, UK

⁷Inova Alexandria Hospital, Alexandria, VA, USA

*Correspondence to: Tim Van Mieghem. E-mail: tim.vanmieghem@sinaihealthsystem.ca

PRENATAL WHOLE EXOME SEQUENCING

Curr Genet Med Rep
DOI 10.1007/s40142-017-0120-y



GENETIC COUNSELING AND CLINICAL TESTING (BS LEROY AND N CALLANAN, SECTION EDITORS)

Prenatal Diagnostic Exome Sequencing: a Review

Lauren E. Westerfield¹ • Alicia A. Braxton^{1,2} • Magdalena Walkiewicz^{1,2}

¹ Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, One Baylor Plaza, mailstop BCM610, Houston, TX 77030, USA

Published online: 02 May 2017

² Baylor Miraca Genetics Laboratories, Houston, TX, USA

43. • Pangalos C, Hagnefelt B, Lilakos K, Konialis C. First applications of a targeted exome sequencing approach in fetuses with ultrasound abnormalities reveals an important fraction of cases with associated gene defects. *Peer J*. 2016;4:e1955. doi:10.7717/peerj.1955. **Importance: first clinical cohort of primarily ongoing pregnancies and use targeted exome approach, demonstrating a 43% diagnostic rate.**



Συνολικά αποτελέσματα γονιδιακού ελέγχου σε έμβρυα με υπερηχογραφικά ευρήματα

- **51** έμβρυα

- ✓ **48** κατά τη διάρκεια της κύησης
- ✓ **3** σε προϊόντα αποβολής

με διάφορα παθολογικά/ανησυχητικά U/S ευρήματα

- Όλα με **φυσιολογικό** μοριακό καρυότυπο-aCGH
- Ανιχνεύθηκαν **παθολογικές** μεταλλάξεις και τέθηκε η **διάγνωση** σε **19** έμβρυα
- Διαγνωστική απόδοση **37%**
- Σε 32 έμβρυα δεν ανιχνεύθηκε παθολογική μετάλλαξη και σε τουλάχιστο 12 από αυτά τα έμβρυα γνωρίζουμε ότι **γεννήθηκαν φυσιολογικά νεογνά**

Τα 19 παθολογικά περιστατικά του τεστ *Fetalis*[®]

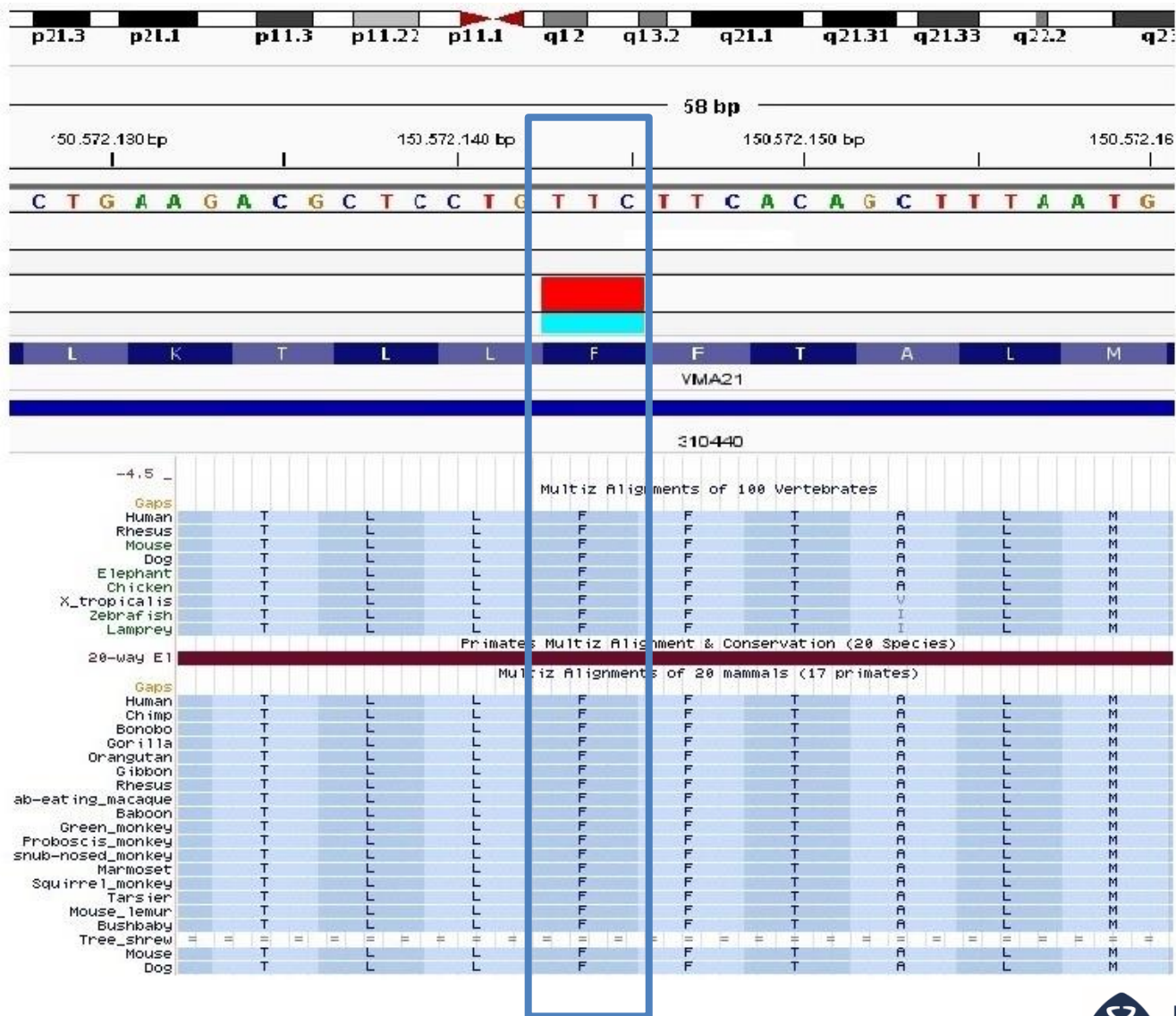
#	Ε.Κ.	Υ/Χ ευρήματα	Ιστορικό	Γονιδιακές μεταλλάξεις	Διάγνωση γενετικού νοσήματος	Επιβεβαίωση - έκβαση
1	27 ^η Π.Α.	Πολλαπλές δυσπλασίες των άκρων	Όχι	<i>EVC2</i> c.2776G>A (p.E926K) & c.707T>C (p.V236A), διπλός ετεροζυγώτης	Syndrome d'Ellis-van Creveld (AR)	γονείς φορείς
2	22 ^η Π.Α.	IUGR, ήπιος υδροκέφαλος, κάμψη αρθρώσεων, μειωμένη εμβρυϊκή κινητικότητα	Ναι	<i>NEB</i> c.11060C>T (p.A3687V) & c.11333T>C (p.I3778T), διπλός ετεροζυγώτης	Nemaline myopathy (AR)	γονείς φορείς
3	18 ^η Π.Α.	Υποπλασία ΔΕ αντιβράχιου, δυσπλασίες καρπού και φαλάγγων ΔΕ χεριού	Όχι	<i>COL3A1</i> c.811C>T (p.R271X), ετεροζυγώτης	Ehlers-Danlos syndrome IV (AD)	πατέρας φορέας, αδελφός του πατέρα με ίδιο φαινότυπο
4	12 ^η	Αυξημένη Ν.Τ. (4.8 mm) και κυστικό ύγρωμα	Όχι	<i>PTPN11</i> c.181G>A (p.D61N), ετεροζυγώτης	Σύνδρομο Noonan syndrome 1 (AD)	μετάλλαξη <i>de novo</i> , γνωστή παθολογική, διακοπή κύησης
5	23 ^η	Ανωμαλίες MRI εγκεφάλου	Ναι	<i>ASS1</i> c.725C>T (p.T242I) & c.971G>T (p.G324V), διπλός ετεροζυγώτης	Citrullinemia (AR)	γονείς φορείς, διακοπή κύησης, προηγούμενη κύηση με παρόμοια US ευρήματα
6	22 ^η	Καρδιακές ανωμαλίες - ISD	Όχι	<i>PROKR2</i> c.518T>G (p. L173R), ετεροζυγώτης	PROKR2-related Kallmann syndrome (AD)	γέννηση, σε ηλικία 5 μηνών χειρουργική αποκατάσταση, καμία άλλη ανωμαλία
7	27 ^η	Στροφή του σκώληκα της παρεγκεφαλίδας, διεύρυνση νωτιαίας δεξαμενής	Ναι	<i>ZIC1</i> c.1208C>A (p.S403Y), ετεροζυγώτης	VOUS Coronal craniosynostosis (AD)	μητέρα φορέας, προηγούμενη κύηση που διεκόπη με ίδια ευρήματα, διακοπή κύησης
8	26 ^η	Έμβρυο με κοντά μακρά οστά και πιθανή καρδιακή δυσπλασία	Όχι	<i>JAG1</i> c.3289C>T (p.R1097W), ετεροζυγώτης	Alagille syndrome (AD)	διακοπή κύησης
9	13 ^η	Αυξημένη Ν.Τ.	Όχι	<i>NPC2</i> c.441+1G>A, ομοζυγώτης	Niemann-Pick disease type C2 (AR)	γονείς φορείς, διακοπή κύησης
10	24 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα αρθρογρύπωσης άνω και κάτω άκρων	Ναι	<i>VMA21</i> c.94_96delTTC (p.Phe32del) φυλοσύνδετο, ημιζυγώτης	Congenital autophagic vacuolar myopathy – X-linked, XLR	προηγούμενη κύηση με γέννηση άρρενος νεογνού με αρθρογρύπωση, που κατέληξε μετά τη γέννηση. Μητέρα φορέας
11	34 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα υπερηχογένειας νεφρών και κύστες νεφρών	Όχι	<i>JAG1</i> c.1159G>C (p.G87R), ετεροζυγώτης	Alagille syndrome (AD)	διακοπή κύησης
12	21 ^η	Πυελικός νεφρός αριστερά με δυο νεφρικές αρτηρίες	Ναι	<i>PROKR2</i> c.518T>G (p. L173R), ετεροζυγώτης <i>FUZ</i> c.406G>A (p.D136N), ετεροζυγώτης	PROKR2-related Kallmann syndrome (AD) Neural tube defects (AD)	προηγούμενη κύηση (διεκόπη) με παραπλήσια υπερηχογραφικά ευρήματα
13	21 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα με IUGR και βραχεία μακρά οστά	Όχι	<i>SOS1</i> c.1829T>C (p.I610T), ετεροζυγώτης	Noonan syndrome 4 (AD)	διακοπή κύησης
14	25 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα με μόρφωμα δεξιού νεφρού, με ασαφή διάκριση φλοιώδους και μυελώδους μοίρας, με πολλαπλές κύστες και υπερηχογένεια	Όχι	<i>TSC2</i> c.934C>T (p.L312F), ετεροζυγώτης	Tuberous sclerosis 2 (AD)	διακοπή κύησης
15	17 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα με μικρογναθία και μεσοκοιλιακή επικοινωνία	Ναι	<i>COL11A1</i> c.4088G>T (p.G1363V), ετεροζυγώτης, πατρικής προέλευσης.	Stickler syndrome type II (AD)	κλινικά ευρήματα στον πατέρα με μικρογναθία, συμβατά με Pierre Robin sequence
16	23 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα με ραιβοποδία	Όχι	<i>CHRNA1</i> c.491_492insT (p.M164Ifs), ετεροζυγώτης	Myasthenic syndrome, congenital 1A (AD)	διακοπή κύησης
17	22 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα συμβατά με Noonan	Όχι	<i>CBL</i> c.1561A>G (p.K521E), ετεροζυγώτης	Noonan syndrome-like disorder with or without juvenile myelomonocytic leukemia (AD)	διακοπή κύησης
18	28 ^η	Αναφέρθηκε πολυδράμιο	Όχι	<i>MAGED2</i> c.1336C>T (p.R446C), ημιζυγώτης, φυλοσύνδετο	Bartter syndrome, type 5, antenatal, transient, XLR	συνέχιση κύησης (??)
19	23 ^η	Υπερηχογραφικά ευρήματα με ραβδομόωμα καρδιάς εμβρύου	Όχι	<i>TSC2</i> c.3212C>G (p.T1071R), ετεροζυγώτης	Tuberous sclerosis 2 (AD)	διακοπή κύησης

Φυλοσύνδετη μυοπάθεια νέα μετάλλαξη του γονιδίου *VMA21*



- 24^η εβδομάδα
- ιστορικό προηγούμενης κύησης με **άρρεν** νεογνό με **αρθρογρύπωση**, που κατέληξε μετά τη γέννηση
- υπερηχογραφικός έλεγχος β' επιπέδου του εμβρύου, που διαπίστωσε **και πάλι άρρεν** έμβρυο με αρθρογρύπωση
- λήψη αμνιακού υγρού – μοριακός καρυότυπος **aCGH φυσιολογικός**
- εφαρμογή του τεστ **Fetalis[®]**
- απάντηση **5** εργάσιμες μέρες

VMA21 gene - c.94_96delTTC (p.Phe32del), maternal in highly conserved transmembrane domain



Congenital autophagic vacuolar myopathy – X-linked



Iulia Munteanu, MD,
PhD
Nivetha Ramachandran,
PhD
Alessandra Ruggieri, PhD
Tomonari Awaya, MD,
PhD
Ichizo Nishino, MD,
PhD
Berge A. Minassian, MD

CONGENITAL AUTOPHAGIC VACUOLAR MYOPATHY IS ALLELIC TO X-LINKED MYOPATHY WITH EXCESSIVE AUTOPHAGY

Neurology 84 April 21, 2015

that it is allelic to XMEA. Clinical details are in the original publication.⁴ Briefly, 7 male members were affected. Of the seven, 5 died soon after birth due to inability to breathe and suckle, one was saved by intubation-ventilation and nasogastric feeding, and the other by nasogastric feeding alone. Both were hypotonic with 10-fold-elevated creatine kinase.



Clinical Case Reports

Open Access

CASE REPORT

Prenatal diagnosis of X-linked myopathy associated with a *VMA21* gene mutation afforded through a novel targeted exome sequencing strategy applied in fetuses with abnormal ultrasound findings

Christopher Konialis^{1,2} , Efstratios Assimakopoulos³, Birgitta Hagnefelt^{1,2}, Sophia Karapanou¹, Alexandros Sotiriadis³ & Constantinos Pangalos^{1,2}

¹InterGenetics – Diagnostic Genetics Centre, Athens 11526, Greece

²Genomis Ltd, Lynton House, London WC1H 9BQ, UK

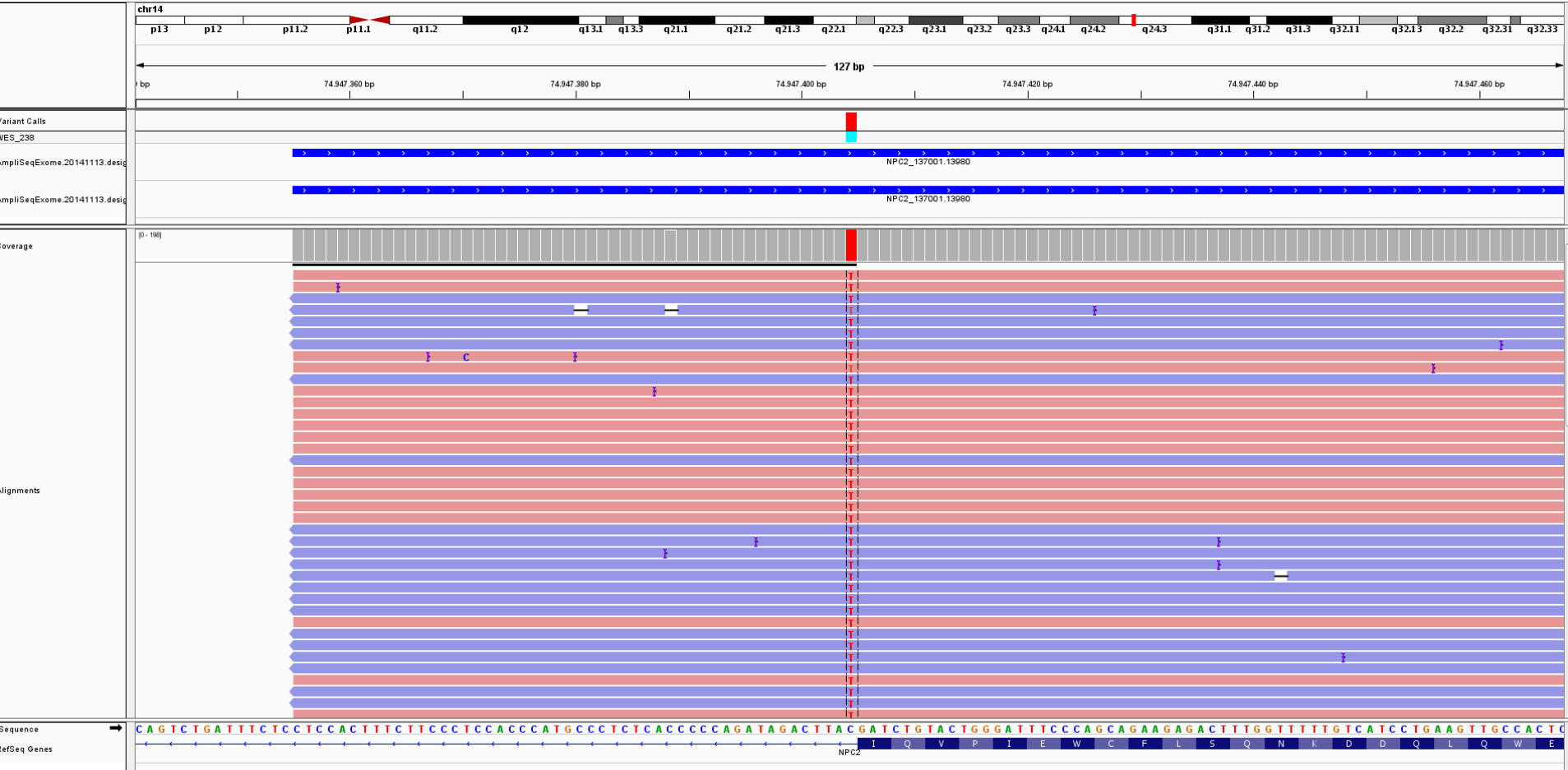
³2nd Department of Obstetrics and Gynecology, Ippokrateion General Hospital, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Clinical Case Reports 2017; 5(3): 308–311

Niemann-Pick type C2 σε έμβρυο με αυξημένη αυχενική διαφάνεια

- U/S 1^{ου} τριμήνου - **αυξημένη NT** στο θήλυ έμβρυο
- μοριακός καρυότυπος **aCGH** φυσιολογικός
- τέθηκε η πιθανή διάγνωση **συνδρόμου Noonan** και μας ζητήθηκε η εκτέλεση **στοχευμένου γονιδιακού ελέγχου μεταλλάξεων του συνδρόμου Noonan**
- τελικά προτιμήθηκε ο **ευρύτερος** γονιδιακός έλεγχος μέσω του τεστ **Fetalis[®]** (παραπλήσιου κόστους με τη στοχευμένη ανάλυση των γονιδίων Noonan)

Niemann-Pick disease, type C2 (AR), έμβρυο ομοζυγώτης για την παθολογική μετάλλαξη c.441+1G>A του γονιδίου *NPC2*

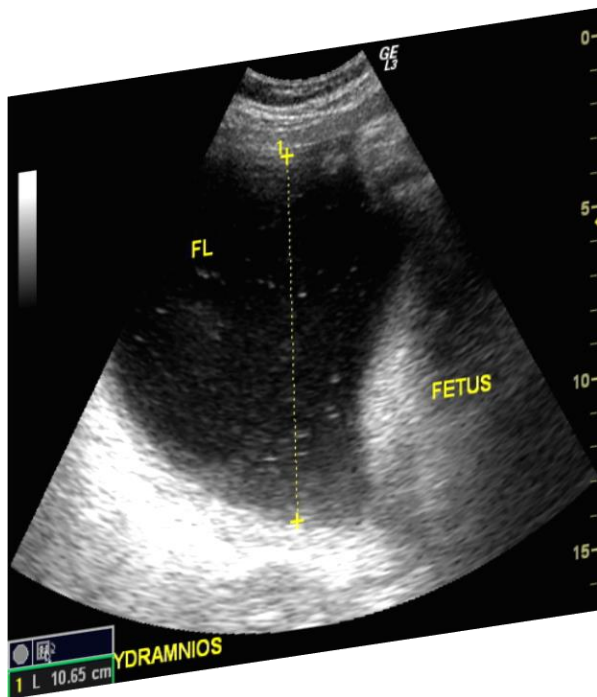


Niemann-Pick disease, type C2 (AR), έμβρυο ομοζυγώτης για την παθολογική μετάλλαξη c.441+1G>A του γονιδίου *NPC2*



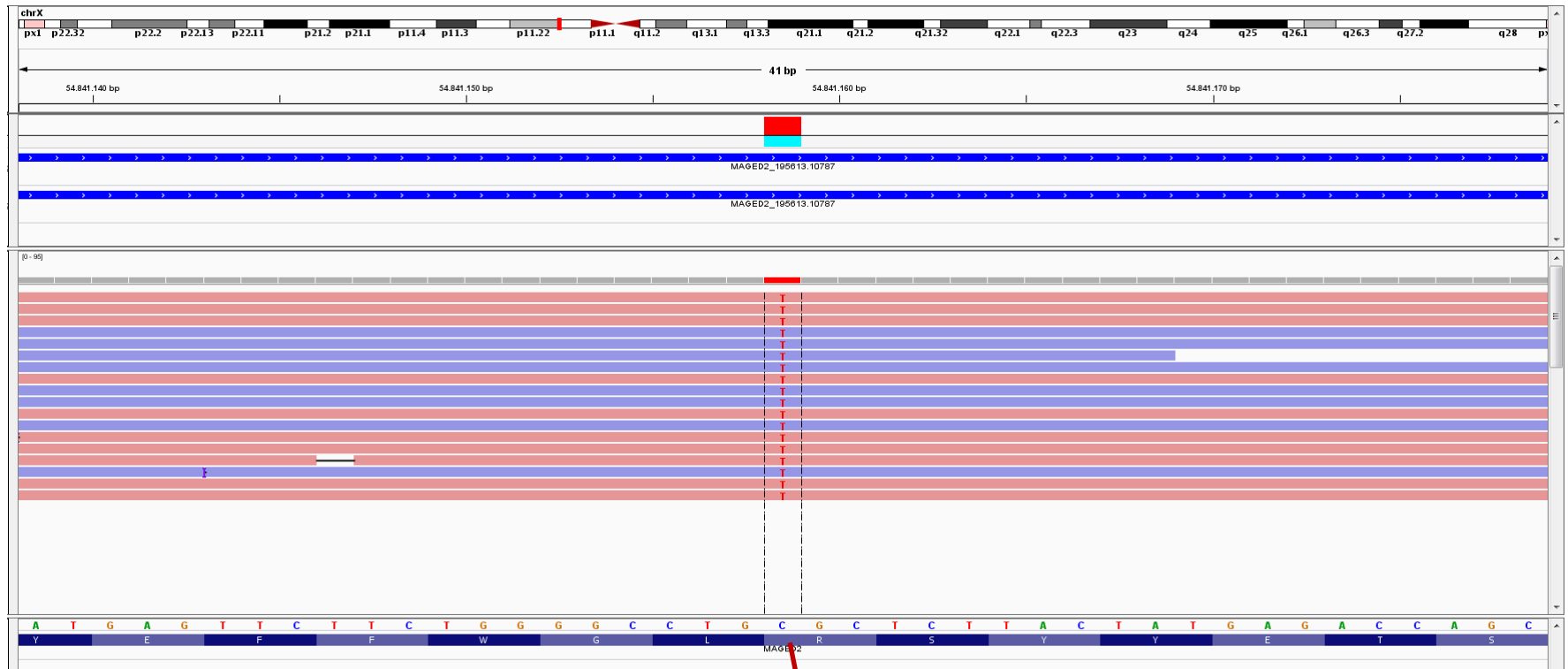
- γονίδιο *NPC2* - Niemann-pick disease, type C2 (OMIM 607625)
- κληρονομείται κι εκδηλώνεται με τον αυτοσωματικό **υπολειπόμενο** τρόπο
- κλινική εικόνα:
 - **νευρολογικά** συμπτώματα
 - υποτονία, δυστονία, αναπτυξιακή καθυστέρηση, σπασμούς, αταξία, κ.α.),
 - εκδήλωση **εμβρυϊκού ασκίτη** (fetal ascites) σε πάσχοντα έμβρυα
- εκδηλώνεται με διαφορετικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και ηλικία εμφάνισης

Bartter syndrome type 5 μετάλλαξη του γονιδίου *MAGED2*

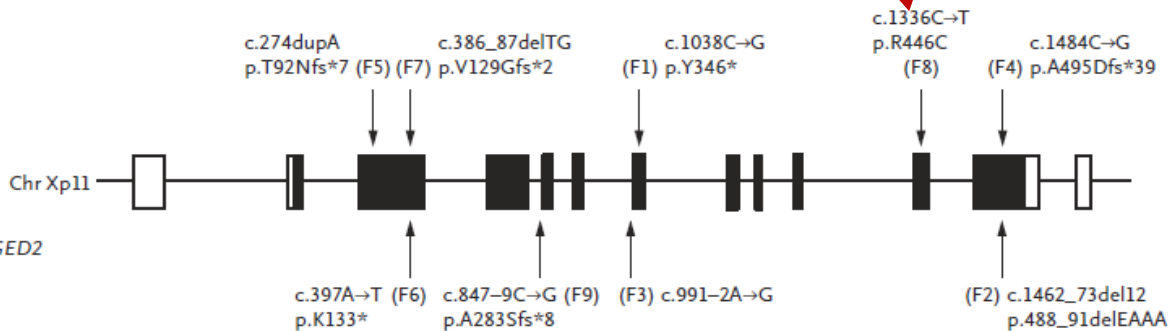


- προγεννητικός έλεγχος λόγω **πολυ-υδράμνιο**
- το συγκεκριμένο U/S εύρημα απαντάται σε περίπου **0.5- 3%** των κυήσεων και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων **δεν αναγνωρίζεται η αιτία**
- σε ~ 2-5% των περιπτώσεων συνυπάρχουν κι άλλα U/S ευρήματα
- οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο περιγεννητικών ανωμαλιών και σε πρόωρο τοκετό
- ο προγεννητικός μοριακός καρυότυπος **aCGH φυσιολογικός**
- την 24^η εβδομάδα εφαρμογή του τεστ **Fetalis®** - απάντηση σε **3** εργάσιμες ημέρες

MAGED2 gene, φυλοσύνδετο, μετάλλαξη c.1336C>T (p.Arg446Cys) είχε προηγουμένα αναφερθεί σε ένα περιστατικό με ιδιοπαθή early-onset severe polyhydramnios, το άρρεν έμβρυο απεβίωσε την 22^η εβδομάδα



B



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

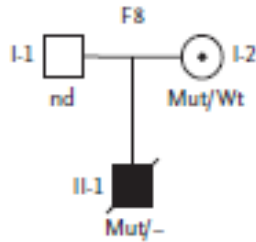
Polyhydramnios, Transient Antenatal Bartter's Syndrome, and MAGED2 Mutations

Kamel Laghmani, Ph.D., Bodo B. Beck, M.D., Sung-Sen Yang, M.D., Elie Seayfan, M.Sc., Andrea Wenzel, Ph.D., Björn Reusch, B.Sc., Helga Vitzthum, Ph.D., Dario Priem, M.Sc., Sylvie Demaretz, B.Sc., Klasiem Bergmann, M.D., Leonie K. Duijn, M.D., Heike Göbel, M.D., Christoph Mache, M.D., Holger Thiele, M.D., Malte P. Bartram, M.D., Carlos Dombret, Ph.D., Janine Altmüller, M.D., Peter Nürnberg, Ph.D., Thomas Benzing, M.D., Elena Levchenko, M.D., Hannsjörg W. Seyberth, M.D., Günter Klaus, M.D., Gökhan Yigit, Ph.D., Shih-Hua Lin, M.D., Albert Timmer, M.D., Tom J. de Koning, M.D., Sicco A. Scherjon, M.D., Karl P. Schlingmann, M.D., Mathieu J.M. Bertrand, Ph.D., Markus M. Rinschen, M.D., Olivier de Backer, Ph.D., Martin Konrad, M.D., and Martin Kömhoff, M.D.

N ENGL J MED 374:19 NEJM.ORG MAY 12, 2016

tics
NOMIKHΣ

Προγεννητική διάγνωση Bartter syndrome type 5 συνδεδεμένο με μετάλλαξη του γονιδίου *MAGED2*



- Το Antenatal Bartter's syndrome χαρακτηρίζεται από **εμβρυϊκή πολυουρία, πολυυδράμνιο, προωρότητα** και **renal salt wasting**
- Το γονίδιο *MAGED2* απαραίτητο για την ομοιόσταση του αμνιακού υγρού
- Το **2016** μεταλλάξεις του γονιδίου *MAGED2* σχετίσθηκαν με **X-linked polyhydramnios with prematurity** και με **βαριά, αλλά παροδική, μορφή του συνδρόμου Bartter**, με αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα

Βιβλιογραφικά δεδομένα

Human Molecular Genetics, 2014, Vol. 23, No. 12 3269–3277
doi:10.1093/hmg/du038
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. Hurles¹

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*}

Current controversies in prenatal diagnosis 2: should a fetal exome be used in the assessment of a dysmorphic or malformed fetus?[†]

Lyn S. Chitty^{1†}, Jan M. Friedman^{2†} and Sylvie Langlois^{2*†} *Prenatal Diagnosis* 2015, 35, 1–5

Editorial

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 4–9

Prenatal exome sequencing for fetuses with structural abnormalities: the next step

S. C. HILLMAN*†, D. WILLIAMS‡, K. J. CARSS§,
D. J. MCMULLAN¶, M. E. HURLES§
and M. D. KILBY†

Η αξία των γονιδιακών ελέγχων στην κύηση

- Αν διαγνωσθεί **παθολογικό** εύρημα
 - ✓ οριστική διάγνωση και πρόγνωση
 - ✓ διευκόλυνση αποφάσεων για την κύηση
 - ✓ 'κλειδί' για την προσεχή αναπαραγωγή του ζεύγους
- Αν ο έλεγχος αποβεί **αρνητικός**
 - ✓ υψηλός βαθμός ασφάλειας για τη γέννηση υγιούς παιδιού

Ευχαριστώ για την προσοχή σας

