

Další kazuistiky kleidokraniální dysplázie

Ruszová, E.¹, Švorcová M.¹, Havlíková P.¹, Skutilová V.¹, Fridrichová P.¹,
Šenkeříková M.¹, Diblík J.².

¹ Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové,
² Gennet s.r.o. Praha

„Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906, Z1/8144,2016)“

Úvod

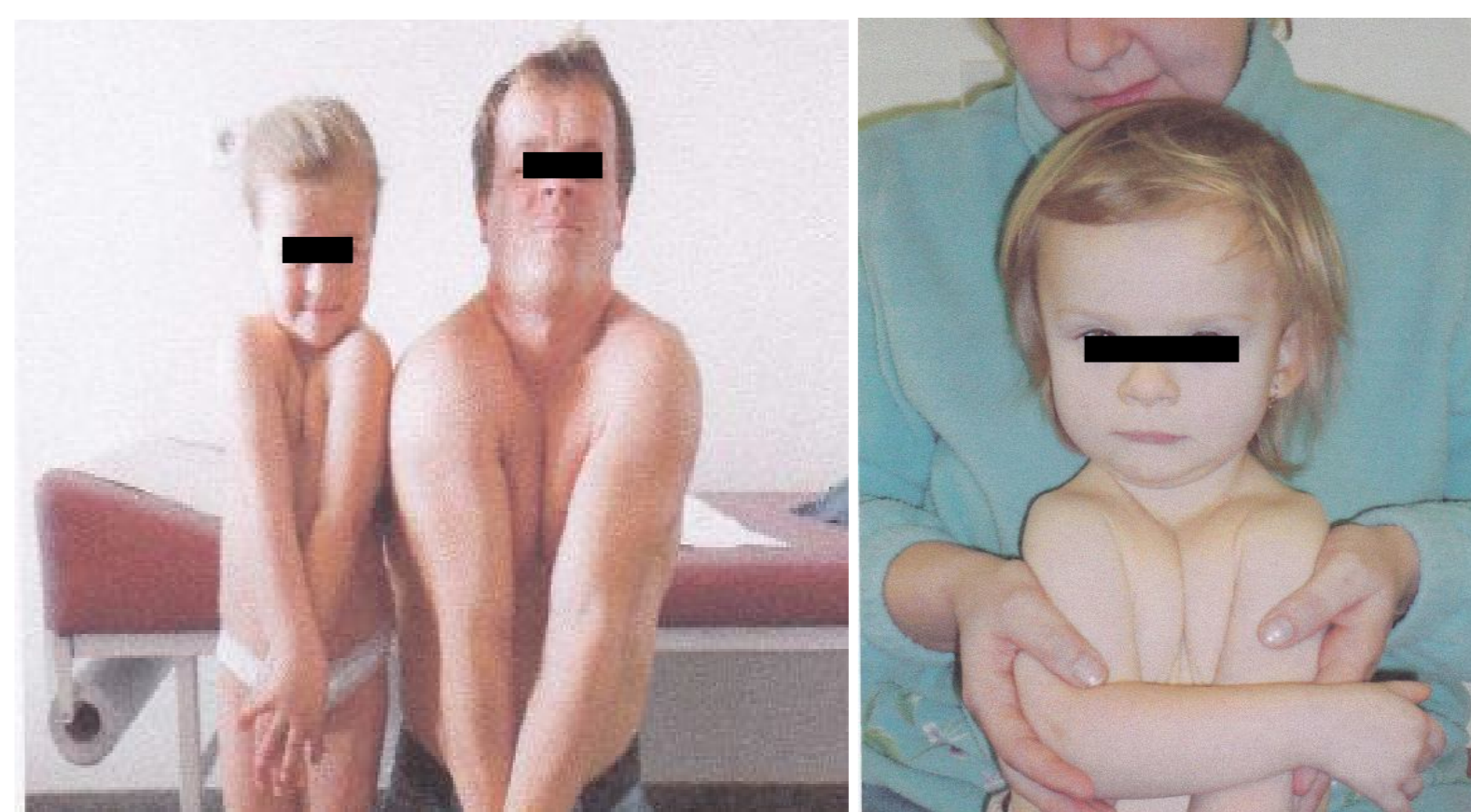
Kleidokraniální dysplázie (CCD) patří mezi vzácné autozomálně dominantní onemocnění. Porucha je nejčastěji způsobena přítomností mutací v genu RunX2 (Runt-related transcription factor 2), jehož proteinový produkt je klíčový transkripční faktor ovlivňující diferenciaci osteoblastů a kostní morfogenézi. Postižené jedince charakterizuje jednostranná nebo oboustranná částečná nebo plná aplazie klíční kosti, mají anomálie v osifikaci lebky vč. čelistí, anomálie vývoje zubů, aplazii symfýzy a arachnodaktylii, skoliózu aj. Postižení jedinci jsou obvykle nízkého vzrůstu. (Obr. 1, 2-naši pacienti)

Metody

Vyšetřili jsme 5 případů kleidokraniální dysplázie na přítomnost mutací v genu RunX2. Všechny kódující exony a splice site oblasti genu RunX2 byly amplifikovány metodou PCR pomocí AmpliTaq GOLD DNA polymerázy (ThermoFisher). Jednotlivé amplikony byly přečištěny na pipetovacím automatu Biomek @ 4000 (Beckman Coulter), podrobeny sekvenační rci BigDye v.3.1 (Applied Biosystems) a osekvenovány na ABI3500 genetickém analyzátoru. Primární data byla vyhodnocena vůči ref. sekvenci RunX2 genu (NG_008020) v Mutation surveyor software v. 4.0.9 (Softgenetics). V jednom případě, kdy nebyla sekvenační analýzou nalezena mutace, byla následně provedena Array-CGH na platformě Agilent (4x180K+SNP, obr. 3), a v jednom případě šetření je plánována konfirmační analýza z cDNA.

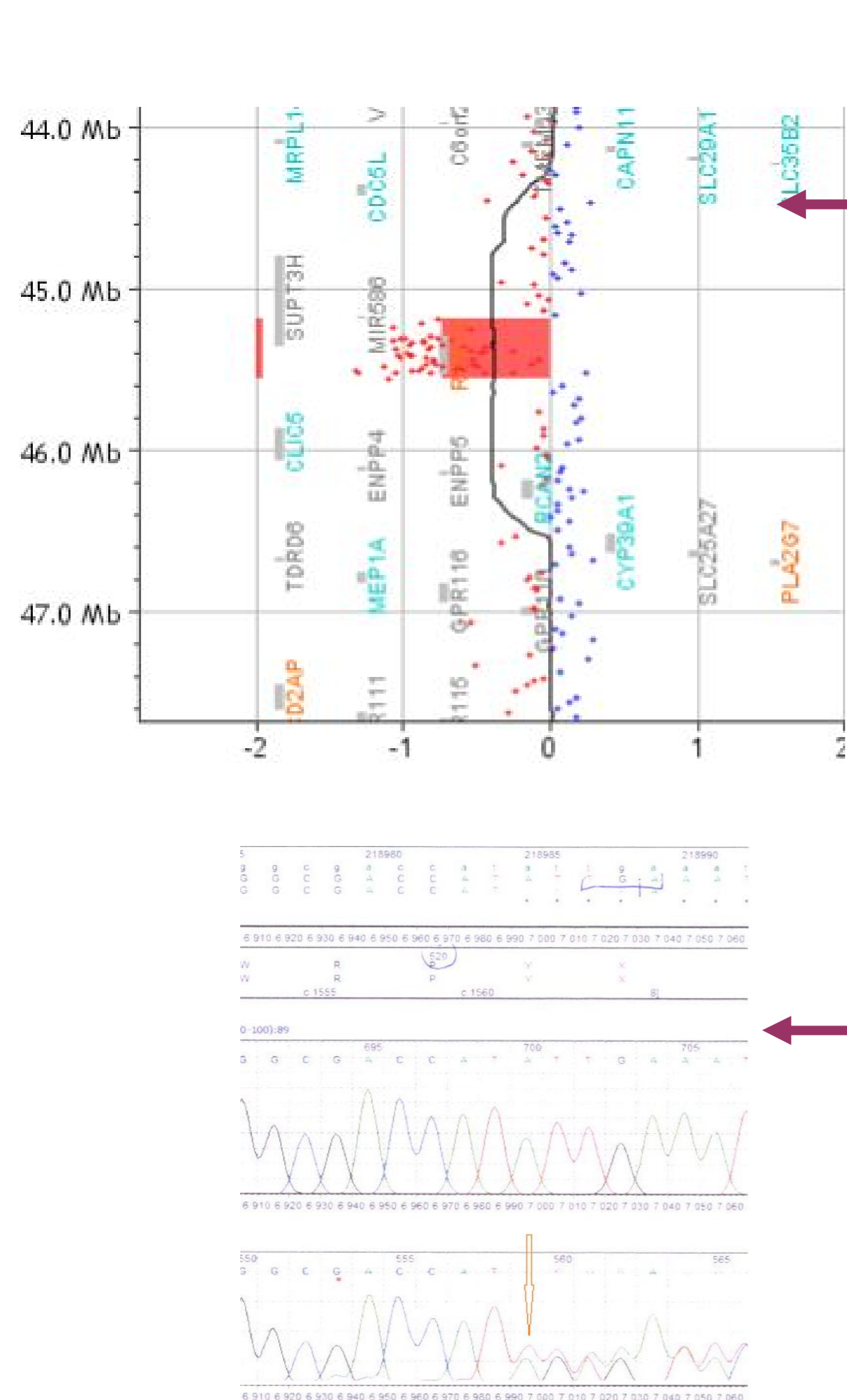
Obr. 1 – pacient P.B.

Obr. 2 – pacient A.J.

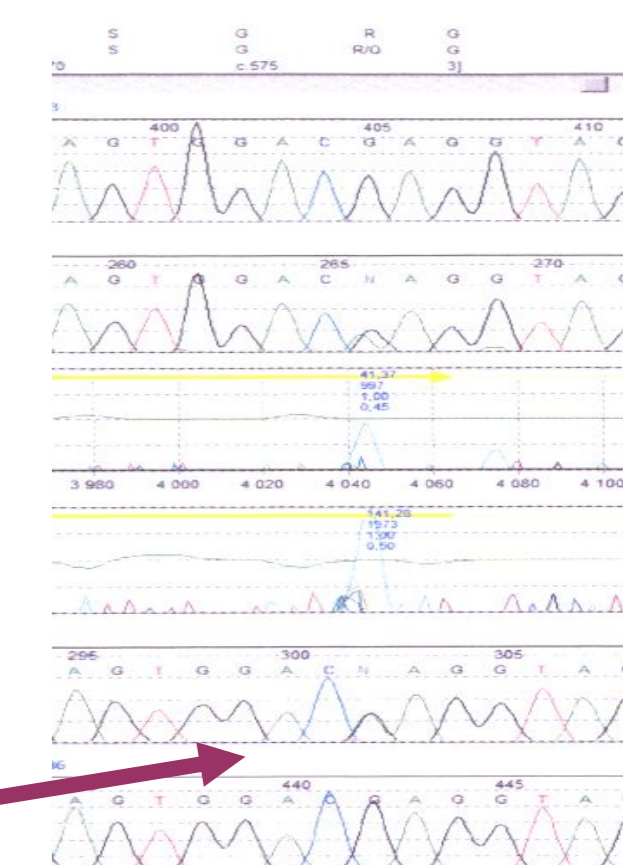


Obr. 3 – delece celého genu RunX2 a části genu SUPT3H

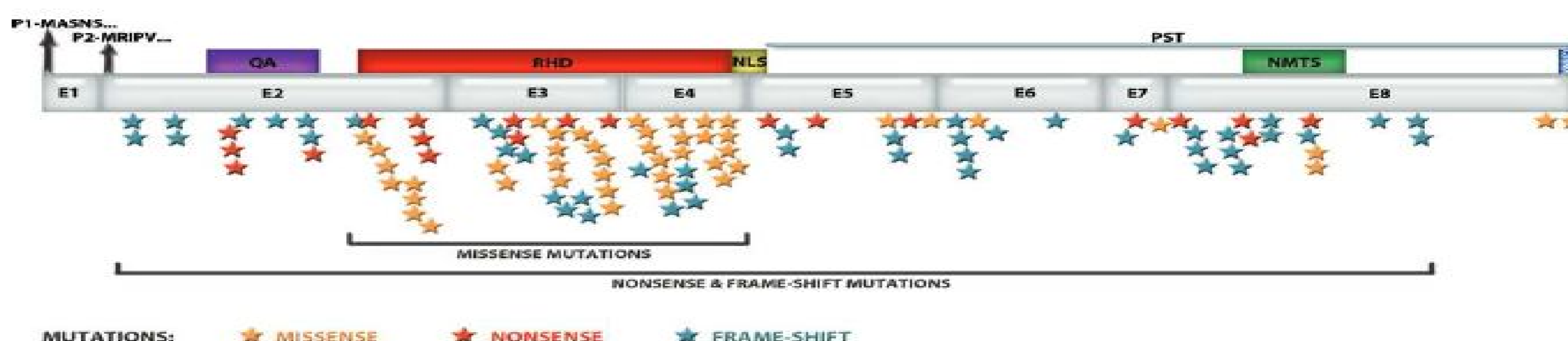
Tab. 1: Námi nalezené mutace v genu RunX2



Pacient	mutace	In silico predikce	interpretace
A. J.	arr[hg19]6p21.1(45178980_45551866)x1		delece celého RunX2 genu
A. Ř.	c.505C>T, p. Arg169Trp	Polyphen2: possibly damaging, SIFT-damaging, MT_disease causing (Runt domain –lost)	substituce, ztráta funkční domény Runt*
P. B.	c.578G>A, p. Arg193Gln	Polyphen2: probably damaging, SIFT-damaging, MT_disease causing (Runt domain –lost)	substituce, ztráta funkční domény Runt**
S. F.	c.1562-1563delAT		frameshift, ztráta terminačního kodonu
L. Š.	c. 801-810del10, p. Pro268Thrfs		frameshift



Obr. 4: Rozložení typů mutací v Runt doméně (RHD) genu RunX2



Shrnutí

U všech pěti námi vyšetřovaných pacientů s CCD byla nalezena mutace v heterozygotním stavu sekvenační analýzou nebo mikrodelece celého genu RunX2 v heterozygotním stavu. Ott et al.*** publikoval výsledky vyšetření největšího množství pacientů s CCD (celkem 135 nepříbuzných pacientů), kde byla nalezena mutace v 61% a delece/duplikace celého RunX2 genu ve zbývajících 10%. Missense mutace se uplatňují nejvíce v Runt doméně (exony 3 a 4, obr. 4) genu RunX2. Na Oddělení lékařské genetiky ve FNHK byla provedena postnatální vyšetření dospělých probandů, ze strany pacientů nebyl příliš velký zájem o vyšetření dětí (mladších 18 let) ani o prenatální šetření, s výjimkou jedné prenatální diagnostiky pro externí DNA diagnostické zařízení.

Zdroj primerů: Quack et al., 1999, Am J Hum Genet 65:1268-1278

* Varianta popsána v práci: Jaruga A., et al., 2016, Clin Genet 90(5):393-402

**Varianta popsána v práci: Quack I. et al., 1999, Am J Hum Genet 65:1268-1278

*** Ott C. E., et al., 2010, Hum Mutat 31(8): E1587-93.