

Eksamen i medicinsk genetik - SODB16031E



29

25 september 2023

Planlagt: 09:00 - 11:00

Eksamensnr: 29

Plads: EH-2093

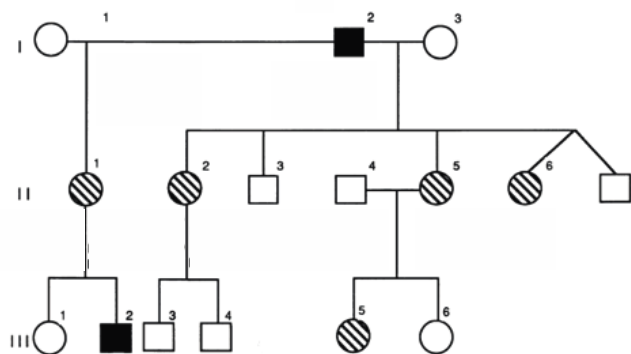
Side 1 af 9

Opgave 1

Amelogenesis Imperfecta (AI) er en heterogen gruppe af lidelser der involverer emaljedannelsen. Der kendes mange gener hvori sjældne genetiske varianter er associerede med forskellige typer af AI.

Hypoplastic amelogenesis imperfecta Type 1E (AI1E) skyldes varianter i genet der koder for amelogenin (*AMELX*). Afficerede mænd har små tænder med et meget tyndt, glat og homogent emaljelag, hvorimod kvinder har tænder med vertikalt forløbende gruber pga af en varierende tykkelse af emaljen.

Billedet viser en familie hvor AI1E segregerer med disse fænotyper hos mænd og kvinder.



1. (P) Redegør for de(n) mest sandsynlige arvegang(e) ved *AMELX*.

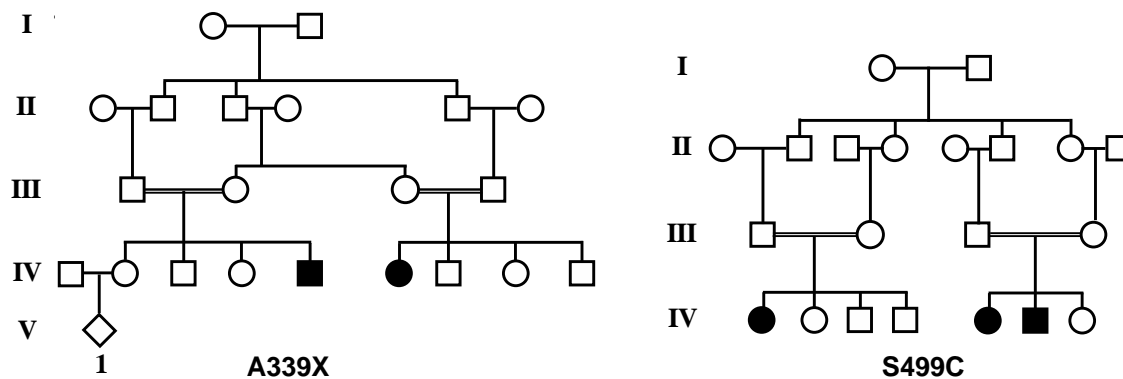
Den mest sandsynlige arvegang er X-bundet recessiv. Der ses ingen far til søn transmission, hvorfor arvegangen må være X-bunden. Der ses transmission gennem kvindelige obligate bærere. Via Punnett Square ses det, at syge mænd får 100% bærere døtre samt 0% afficerede sønner. De obligate kvindelige bærere derimod får 50% bærerpiger og 50% syge sønner. Dette stemmer godt overens med ovenstående stamtræ.

2. (P) Redegør for en mekanisme der kunne forklare forskellen af symptomerne hos mænd og kvinder og den heterogene struktur af tænderne hos kvinder.

Kvindernes symptomer kan skyldes skæv X-kromosom inaktivering (manifesterende heterozygoter), hvor kvinder inaktiverer det ene X stokastisk i de tidlige cellestadier (8-10 celler) for at nå samme genekspression som mænd, idet mændene er hemizygote (XY). Ved en skæv kromosominaktivering inaktiveres de to X-kromosomer ikke 50:50, men derimod skævt fordelt. Kvinder vil derfor have varierende grader af symptomer sammenlignet med mændene. Dette stemmer derfor overens med den heterogene struktur af kvindernes emalje.

Hypomaturation-type amelogenesis imperfecta IIA5 (AI2A5) er koblet til genet *SLC24A4*. Der er fundet 25 personer med AI2A5 i en befolkning på 5,6 millioner.

Stamtavlerne viser to familier hvori AI2A5 segregerer pga varianterne A339X og S499C.



3. (PP) Redegør for den mest sandsynlige arvegang af AI2A5, og beregn risikoen for at V-1 udvikler AI2A5. Diskuter herunder også, hvilke forudsætninger og faktorer der skal være opfyldte for at du kan udføre beregningen.

Den mest sandsynlige arvegang af AI2A5 er autosomal recessiv. Der ses en horizontal arvegang, hvorfor sygdommen nedarves recessivt. Der ses lige mange afficerede mænd som kvinder, hvorfor arvegangen er autosomal. Derudover ses der konsangvitet, som ofte ses i forbindelse med autosomale recessive sygdomme.

Bærerrisikoen for IV.1 udregnes ved brug af Hardy-Weinberg ligevægt. Jeg antager, at befolkningen er i Hardy-Weinberg ligevægt, såsom ingen migration, ingen selektion, genetisk drift, frit valg af partner osv. Derudover antager jeg at befolkningen er repræsentativ.

Ydermere antager jeg at ved en autosomal recessiv arvegang er q^2 afficerede (homozygote for den afficerede allel), p^2 raske (homozygote for den raske allel) og $2pq$ bærere (heterozygoter):

$$q^2 = \frac{25}{5.600.000}$$

$$q = \sqrt{\frac{25}{5.600.000}} = 0,0021$$

$$p = 1 - q = 1 - 0,0021 = 0,9979$$

$$2pq = 2 * 0,9979 * 0,0021 = 0,0042$$

Bærerrisikoen for IV.2 er $2/3$, idet hun har en syg søskende, hvorfor begge forældre (III.1 og III.2) må være heterozygoter.

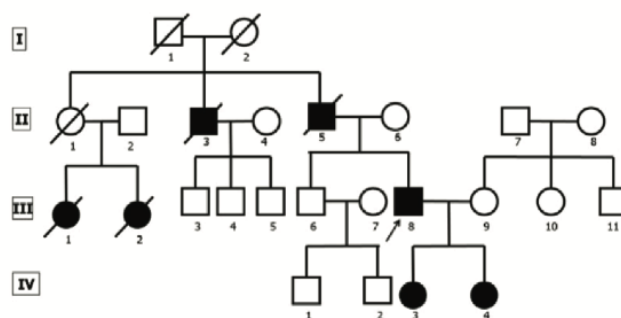
Barnets (IV.1) sygdomsrisiko er dermed $\frac{2}{3} * \frac{1}{2} * 0,0042 * \frac{1}{2} = 0,0016$

4. (P) Diskuter genetisk heterogenitet i Amelogenesis Imperfecta med reference til hele Opgave 1.

Der ses locus heterogenitet ved Amelogenesis imperfecta eftersom mutationer i forskellige gener giver samme sygdom. Der ses forskellige arvegang, hvoraf der i opg. 1.1 ses X-bundet recessiv ses der autosomal recessiv i opg. 1.3. Derudover skyldes sygdommen forskellige mutationer i forskellige gener. I opg. 1.1 skyldes det mutation i genet AMELX. I opg. 1.3 skyldes mutationer i *SLC24A4*.

Opgave 2

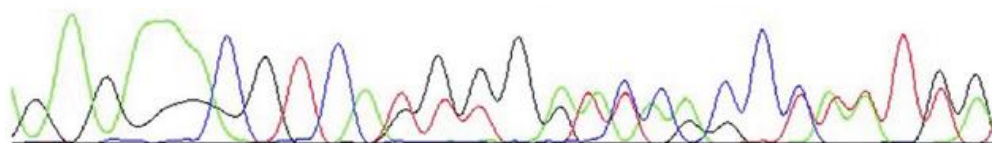
Familiær Adenomatøs Polypose (FAP) er en sjælden arvelig sygdom der skyldes mutationer i APC genet på kromosom 5. Ved FAP udvikles der hundreder til tusindvis af polyper i tyk- og endetarmen hvoraf en eller flere med næsten 100% sandsynlighed udvikles malignt. Variationer i APC genet medfører også Gardner syndrom hvor der udover FAP optræder symptomer fra andre organer, inklusive benigne osteomer i kæben samt tandanomalier.



Stamtavlen viser en stor familie med FAP/Gardner syndrom hvor man ved Sanger sekventering af en blodprøve fra III-8 fik følgende resultat:

G A G A A A C G T C A T G T G G A T C A G C C T A T T G Normale sekvens

G A G A A A C G T C A G T G G A T C A G C C T A T T G A Mutante sekvens



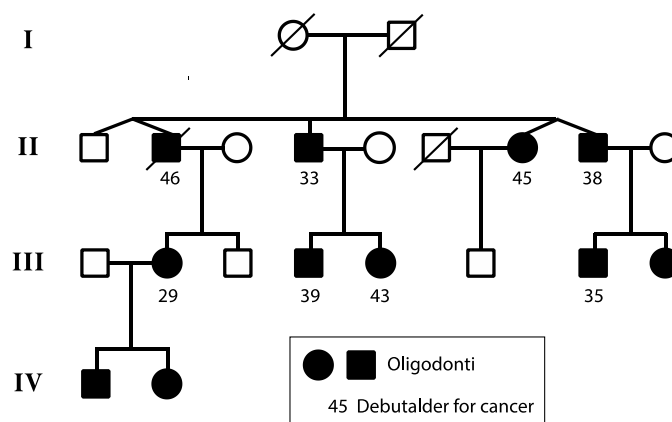
1. (P) Redegør for arvegangen af FAP/GS i denne familie og for resultatet af mutationsanalysen hos III-8. Hvad er konsekvensen af sådan en mutation?

Den mest sandsynlige arvegang for FAP/GS i denne familie er autosomal dominant med nedsat penetrans. Der ses vertikal arvegang (dog med nedsat penetrans), hvorfor arvegangen

er dominant. Det ses at der er omtrent lige mange mænd som kvinder som er afficerede. Slutteligt ses der far til søn transmission (fra II.5 til III.8), hvorfor X-bundet arvegang udelukkes.

Af mutationsanalysen ses det, at der ved base 12 ses en punktmutation, hvor der i den mutante sekvens er indsat et G i stedet for T, som findes i den normale sekvens. Dette er en missense mutation, som medfører et frameshift, hvorved læserammen forskydes. Dette kan have betydning for proteinets funktion og eventuelt medføre et præmaturot stopcodon.

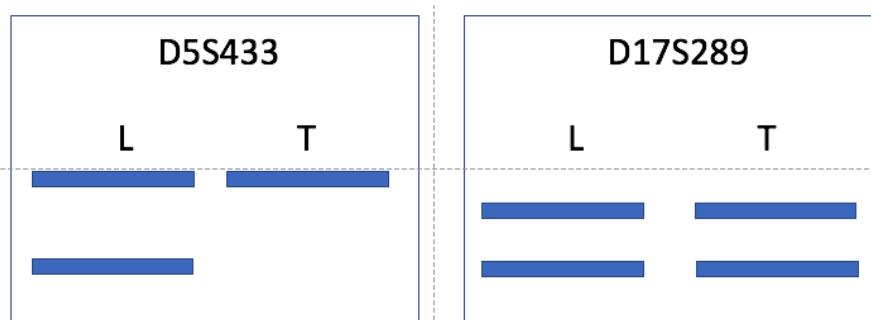
APC proteinet indgår i et større proteinkomplex der bl.a. omfatter AXIN2. I nedenstående familie nedarves varianten T663X i *AXIN2* gen sammen med en variabel fænotype der inkluderer polypper i tyktarm og ventrikel, mild ektodermal dysplasi med sparsomt hår og øjenbryn, oligodonti samt colorektal cancer og brystcancer.



2. (PP) Redegør for om der er arvelig cancer i de to familier med FAP og *AXIN2*-relateret oligodonti og variabel colorektal cancer syndrom. Forklar hvilken mekanisme der ligger bag arvelige kræftformer og hvordan denne mekanisme medfører de karakteristika der ses ved arvelig cancer.

I familien med *AXIN2* ses der en autosomal dominant arvegang, som der også var ved FAP familien. Den autosomale dominante arvegang er karakteristisk for cancer. Derudover ses der ofte associerede cancertyper, eks. mammacancer og ovariecancer fra mutation i *BRCA1/2*. Derudover ses der ofte parrede tumorer (bilaterale). Ydermere ses ofte tidligere sygdomsdebut for generationerne.

Knudsons Two Hit hypotese kan anvendes til at beskrive mekanismen bag arvelig cancer. Teorien beskriver, at man er mere eksponeret for at udvikle cancer såfremt man har nedarvet en muteret allel i et tumor suppressor gen. Denne nedarvede mutation er "1. Hit". Ved en senere mutation i den raske allel af tumor suppressor genet (2. Hit) kan dette medføre cancer. Det andet hit kan blandt andet skyldes miljø, som eksempelvis mutagener (såsom UV-bestråling). Dette medfører til loss of heterozygosity.



Billedet viser mikrosatellit analyser af tumor DNA (T) og DNA fra blodprøver (L) fra henholdsvis person III-8 i *APC*-familien og III-7 i *AXIN2*-familien.

D5S433 er tæt koblet til *APC* og D17S289 er tæt koblet til *AXIN2*.

3. (PP) Redegør for hvad mikrosatellit-analyserne kan fortælle om mekanismen for udvikling af cancer hos de to personer.

Af mikrosatellit markøren for III-8 fra *APC*-familien ses det, at der i blodprøven (L) ses to alleler. I tumorvævet (T) ses det, at der er to ens alleler. Dette kunne tyde på, at mutationen i *APC* ligger på et tumor suppressor gen, idet der ses loss of heterozygosity. III-8 er fænotypisk syg, hvorfor han enten har udviklet cancer grundet 2. hit på det raske tumor suppressor allel eller han har fået deleteret den ene allel.

Af mikrosatellit markøren for III-7 fra *AXIN2* familien ses det, at der er to alleler i blodprøven (L) samt i tumorvævet (T), hvorfor der ikke er tale om mutation i et tumor suppressor gen. Det kunne blandt andet skyldes anticipation (dynamiske mutationer), som ligeledes medfører en tidligere debutalder for cancer, når CAG repeat sekvensen forlænges fra generation til generation.

Opgave 3

I en svensk analyse af 93 probander med non-syndromisk isoleret oligodonti påvist der i 5 af probanderne følgende genetiske varianter i 4 kendte gener for oligodonti: *AXIN2*, *MSX1*, *PAX9* og *EDARADD*.

EDARADD	c308>T	S103P
AXIN2	c1994dupG	duplikationG
AXIN2	c2272G>A	A758X
MSX1	c526C>T	A176T
PAX9	c230_242del13bp	Deletion af 13 baser

1. (P) Redegør for typen af mutation og effekten på aminosyre/protein niveau og den sandsynlige kliniske effekt (benign/patogen/uvis) af de enkelte varianter.

For genet *EDARADD* ses en missense mutation (S103P), hvor en aminosyre er udskiftet med en anden. Dette kan have betydning for proteinets funktion. Det kan medføre et præmaturot stopcodon. Den sandsynlige kliniske effekt er muligvis patogen, idet det kan medføre til gain of function.

For genet AXIN2 ses to mutationer (duplikationG og A758X). Jeg antager, at duplikationsmutationen medfører indsættelse af en ekstra G-base, hvorfor dette kan føre til en frameshift mutation (idet det ikke er deleligt med 3). Denne mutation kan dermed føre til ændring af læserammen eller indsættelse af et præmaturot stopcodon. Begge dele kan medføre til ændring i proteinets funktion.

A758X er en nonsense mutation, som medfører et præmaturot stopcodon. Dette medfører dermed et trunke protein, hvor proteinets funktion dermed er forandret.

De to ovennævnte mutationer er formentligt patogene.

For genet MSX1 ses en missense mutation (A176T), hvor en aminosyre er udskiftet med en anden. Dette kan have betydning for proteinets funktion og kan samtidigt medføre et præmaturot stopcodon. Den sandsynlige kliniske effekt er muligvis patogen, idet det kan medføre til gain of function.

For genet PAX9 ses en deletion af 13 baser som medfører en frameshift mutation. 13 er ikke deleligt med 3, hvorfor læserammen forskydes. Dette kan have betydning for proteinets funktion, idet dette område kan være med til at kode for det essentielle gen i forhold til tanddannelsen. Det spiller dog en rolle om hvorvidt deletionen er sket i de kodende exons eller ikke kodende introns. Den kliniske effekt er uvis, idet det afhænger af deletions placering.

Ydermere er missense mutationer kendetegnet ved gain-of-function, hvorfor dette kan have betydning i forhold til cancer proliferation. Gain of function ses ved proto-onkogener, som kræver en mutation for at proliferere til cancer.

2. (P) Diskuter hvilke andre faktorer der kunne bruges til at vurdere om en funden variant er patogen.

Man kunne udføre en koblingsanalyse på de fundne genvarianter, hvor man sammenholder markøranalyser fra afficerede personer med en rask kontrolgruppe. Ved undersøgelse i en tilstrækkelig stor population ville man kunne drage en stærkere konklusion på om, hvorvidt de ovennævnte mutationer har signifikant betydning for udvikling af oligodonti eller om det i større grad afhænger af et sammenspil af forskellige mutationer. Af undersøgelsen kræves det, at de undersøgte raske og afficerede er repræsentativt for befolkningen.

Opgave 4

ArrayCGH er i dag førstevalg ved genetisk diagnostisk screening af fostre hvor der er mistanke om udviklingsdefekter, samt af nyfødte børn med medfødte misdannelser og/eller udviklingshæmning. Tidligere var førstevalget klassisk kromosomanalyse.

1. (P) Hvad er fordelene ved at benytte arrayCGH fremfor klassisk kromosomanalyse?

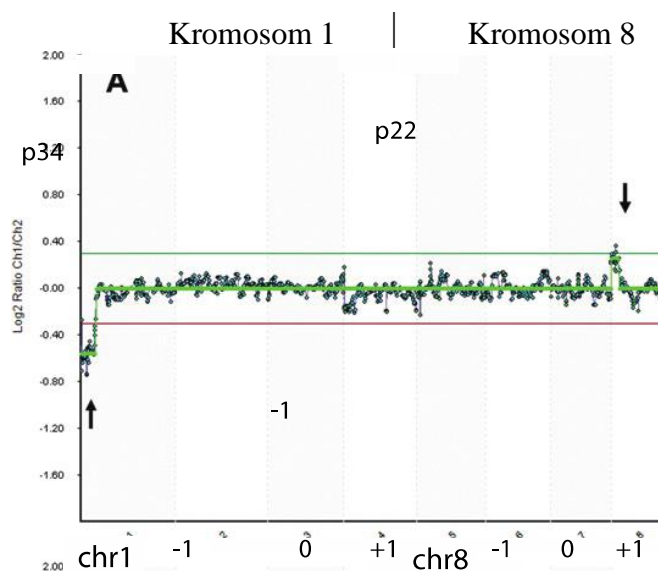
Ved en klassisk kromosomanalyse dannes en karyogram ud fra en trinvis proces, hvor man slutteligt farver med Giemsa, som farver C- og G båndene. Man kan derfor ud fra undersøgelsen opstille en karyotype. Det kan dog være svært at opdage små kromosomvariationer i den klassiske kromosomanalyse. Det kan derfor være smart at

anvende arrayCGH, idet denne metode spotter ukendte mikroduplikationer og mikrodeletioner (100-200 kbp). Her ses nemt udsving fra normalen og det giver samtidigt en meget præcis placering af duplikationen eller deletionen.

2. (P) Hvad er ulempen ved at benytte arrayCGH som første valg?

Det kan være en ulempe at anvende arrayCGH, såfremt man søger efter en speciel mutation (balanceret såvel som ubalanceret). Det kan eksempelvis være i forbindelse med PGD, hvor man i forbindelse med IVF undersøger for om fosteret har nedarvet moderens eller faderens mutation før implantation i uterus.

3. (PP) Redegør for resultatet af nedenstående arrayCGH analyse af en dreng med udviklingshæmning og medfødte misdannelser inklusive mangel på tænder (der er kun vist de to kromosomer 1 og 8). Hvordan kan denne kombination af kromosom-varianter opstå



4. (PP) Angiv de mulige karyotyper hos forældrene der kunne disponere til de fundne varianter hos barnet.

Moderen eller faderen til barnet, som der udført ovenstående arrayCGH af, kunne have en balanceret reciprok translokation 46, XX t(1;8) (p34;p22) / 46, XY t(1;8) (p34;p22). Denne balancerede translokation kan nedarves til fosteret i ubalanceret form, hvorved barnet vil udvise symptomer. Såfremt det antages, at den anden forældre er genotypisk rask vil parret kunne få 6 gameter:

- 1 normalt barn
- 1 barn med den nedarvede balancerede translokation
- 2 børn med partiel trisomi 1 samt partiel monosomi 8
- 2 børn med partiel trisomi 8 samt partiel monosomi 1.

Van der Woude syndrom (VWS) er karakteriseret ved pits og/eller fistler i underlæben, samt læb- og/eller gane-spalte. VWS rammer begge køn lige hyppigt. Læbe-fistler ses hos 80%,

spalter hos ca. 50% og hypodonti ses hos 25% af VWS patienterne. Familiær VWS skyldes loss-of-function mutationer i *IRF6* genet, men enkelte sporadiske patienter har en mikrodeletion af regionen 1q32.2-q32.3 der inkluderer *IRF6*.

5. (P) Diskuter hvad der er den molekulære mekanisme bag sygdommen og den sandsynlige arvegang for familiær VWS.

Den mest sandsynlige arvegang for VWS er autosomal, idet den rammer mænd som kvinder lige hyppigt. Eftersom familiær VWS skyldes loss of function mutationer (tumorsupressor gen) i *IRF6* genet, må dette medføre at mutationen nedarves dominant med nedsat penetrans. Der ses ligeledes variabel ekspressivitet, hvorfor VWS patienterne udviser forskellige fænotyper. Her kan der være tale om allel heterogenitet, idet forskellige mutationer i samme gen giver varierende grader af sygdommen.

Den estimerede incidens af VWS ved fødslen er ca. 1/50,000 i størstedelen af Europa, men i Finland er VWS den mest almindelige monogene årsag til læbe-gane-spalte.

6. (P) Redegør for en mulig årsag til denne forskel i incidenser mellem den finske og andre europæiske befolkninger.

Denne forskel i incidenser mellem den finske og øvrige europæiske befolkning kan skyldes genetisk drift. Derudover kan der være tale om en founder effekt i Finland.