

Eksamen i medicinsk genetik - SODB16031E



30

25 september 2023

Planlagt: 09:00 - 11:00

Eksamensnr: 30

Plads: EH-2159

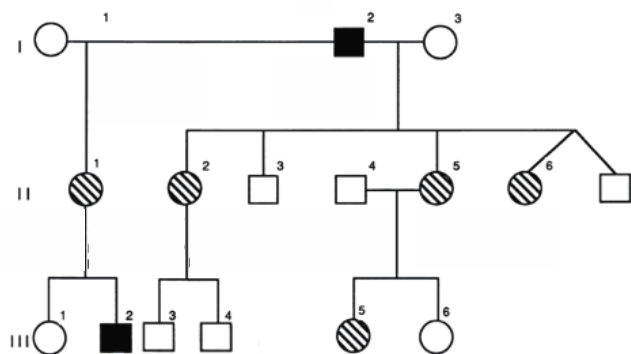
Side 1 af 10

## 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*.

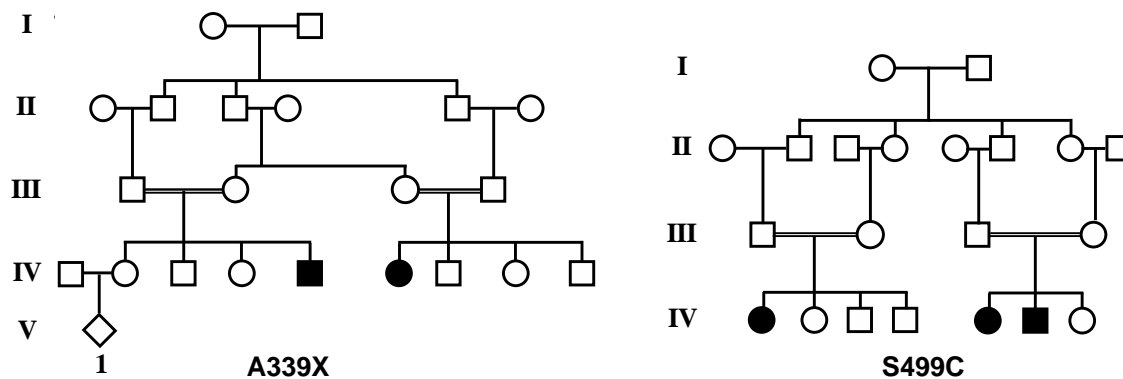
Af ovenstående stamtræ ses det, at der er flere afficerede kvinder end mænd, og en vertikal arvegang med syge i hver generation, hvorfor recessive arvegange kan udelukkes. Derudover ses der ingen far til søn transmission. Dette tyder derfor på, at arvegangen for *AMELX* med stor sandsynlighed er X-bunden dominant, da der er flest afficerede kvinder. Dog kan vi ikke udelukke autosomt dominant arvegang.

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

En mekanisme, der kunne forårsage forskellen symptomerne hos mænd og hos kvinder, er skæv X-inaktivering. X-inaktivering sker i de tidlige fosterstadier hos kvinder hvor det ene X-kromosom (da kvinder jo har 2 X-kromosomer) inaktiveres, således at mænd og kvinder har lige meget genmateriale (mænd som jo er hemizygot med et X, XY). Sker der derimod en skæv X-inaktivering, ville dette kunne medføre flere aktive X-kromosomer, som bærer mutationen, og færre inaktive X-kromosomer, med den raske allel.

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 for AI2A5 er autosomal recessiv. Der ses horisontal arvegang, med syge børn som har raske forældre. Der ses omtrent lige mange afficerede mænd og kvinder. Der ses derudover far til søn transmission, idet alle forældre i generation III må være heterozygote bærere af mutationen, for at de kan få syge børn i generation IV. Således kan vi altså udelukke X-bundne arvegange. Slutteligt ser vi konsangvinitet hos begge familier, hvilket også er karakteristisk for autosomt recessive arvegange.

Risikoen for at V.1 udvikler AI2A5 udregnes nedenfor:

- Faderens (IV.1) risiko må være befolkningen risiko som beregnes vha. Hardy Weinberg ligevægten:  
 $q = 25 / 5.600.000 = 4,464 * 10^{-6}$   
 $p = 0.9999955357$  (p er således tilnærmelsesvis 1)  
 $2pq = 2 * 1 * 4,464 * 10^{-6} = 8.929 * 10^{-6}$
- Moderens risiko for at være bærer af sygdommen må være  $2/3$ , idet hun har en afficeret bror. Her kan man også lave et Punnet square.
- Samlet set er risiko for at barnet udvikler sygdommen følgende:  
 $8.929 * 10^{-6} * \frac{1}{2} * \frac{2}{3} * \frac{1}{2} = 1.489 * 10^{-6}$

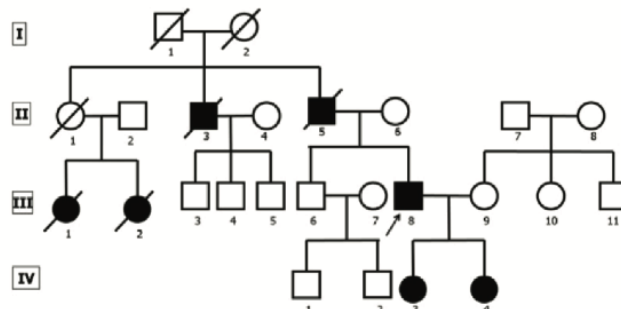
Forudsætninger der skal være opfyldt er, at der er Hardy Weibberg ligevægt i befolkningen. Dvs. der er genetisk drift, at der er ingen migration, ingen selektion, frit valg af partnere mv. Derudover forudsættes det også, at det er en stor nok population som undersøges, samt at de 5.6 mio. er en repræsentativ del af befolkningen.

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

Jf. opgaveteksten ved vi, at Amelogenesis Imperfecta er en heterogen gruppe af lidelser der involverer emalje-dannelsen. Der kendes mange gener hvori sjældne genetiske varianter er associerede med forskellige typer af AI. Dette tyder på, at der er tale om locus heterogenitet, idet mutationer i forskellige gener medfører samme sygdom. Eksempelvis er der Hypoplastic amelogenesis imperfecta Type 1E (AI1E), som er forårsaget af mutationer i genet der koder for amelogenin (*AMELX*). I opgave 2.3 ser vi to stamtavler fra to familier hvori AI2A5 segregerer pga varianterne A339X og S499C. Der er her både en nonsense mutation og en missense mutation som gør, at individerne i familien udvikler samme fænotype. Dette taler også for, at der er tale om locus heterogenitet i Amelogenesis Imperfecta.

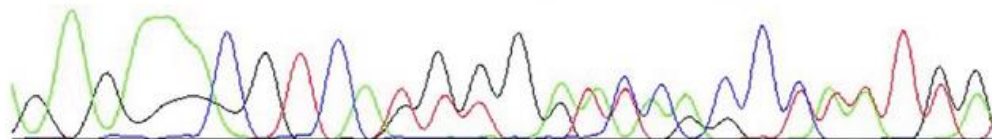
**Opgave 2**

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 polypper 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**

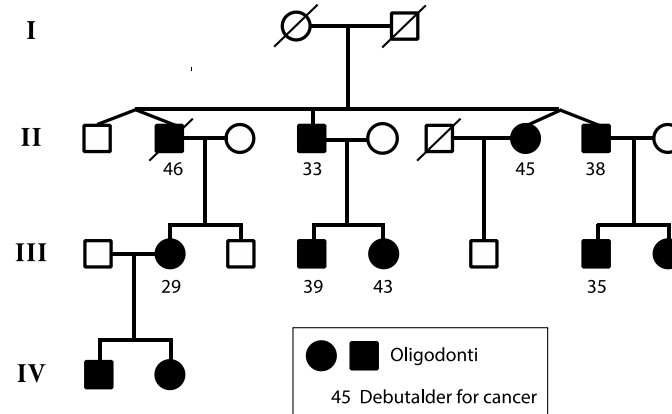


**1. (P) Redegør for arvegangen af FAP/GS i denne familie og for resultatet af mutationsanalysen hos III-8. Hvad er konsekvensen af sådan en mutation?**

Vi får oplyst af opgaveteksten at FAP er en sjælden arvelig sygdom, der skyldes mutationer i APC-genet. Vi kan derfor udelukke recessive arvegange, da det ville være ekstremt usandsynligt ved sådanne sjældne sygdomme at begge forældre er bærere af en sådan mutation (da begge forældre skal være bærere for at få et sygt barn ved autosomal recessive sygdomme). Der ses ca. lige mange afficerede mænd som kvinder, og en vertikal arvegang med syge i hver generation. Derfor arvegangen være autosomal dominant med nedsat penetrans (se generation I og generation III nr. 3, 4 og 5, som er raske).

Af ovenstående mutationsanalyse hos III.8 (gennem Sanger sekventering) ses det, at der er blevet skiftet en aminosyre ud. T i den normale sekvens er altså G i den mutante sekvens. Det må derfor formodes at der er sket en missense mutation, som kan medføre ændring af proteinaktiviteten, øgning af risiko for indsættelse af et præmaturt stopcodon. Derved kan det generelt medføre ændret genprodukt, som kan forårsage FAP/Gardner syndrom.

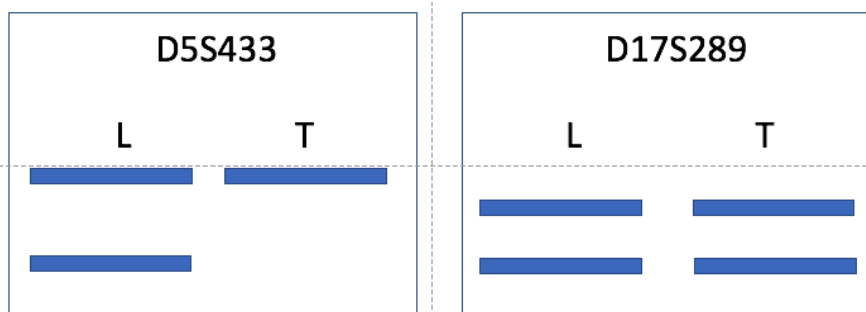
APC proteinet indgår i et større proteinkompleks der bl.a. omfatter AXIN2. I nedenstående familie nedarves varianten T663X i *AXIN2* gen sammen med en variabel fænotype der inkluderer polypper i tyktarm og ventrikel, mild ektodermal dysplasi med sparsomt hår og øjenbryn, oligodonti samt colorektal cancer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

Jf. ovenstående stamtræ ses der en vertikal arvegang, med syge i alle generationer. Der er lige mange kvinder og mænd med sygdommen, og der ses endvidere far til søn transmission (fx fra II.4 til III.4). Alle disse oplysninger indikerer, at sygdommen er autosomt dominant. Derudover må den autosomale dominante sygdom skyldes en germline-mutation i generation I, idet disse begge er raske men får 4 syge børn ud af 5 børn totalt. Arvelig cancer er netop typisk karakteriseret ved en autosomt dominant arvegang.

For at redegøre for den mekanisme der ligger bag arvelig cancer indskrives Knudsons Two Hit hypotese. Denne hypotese anvendes til at beskrive mekanismer bag arvelig cancer, og denne fortæller at man er mere eksponeret for at udvikler cancer, hvis man har nedarvet en mutateret allel af en tumorsupressor gen (første Hit). Andet Hit indtræffer når den tilbageværende raske allel muteres, hvorved man kan udvikle cancer. Dette benævnes også "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.**

D5S433 er tæt koblet til APC genen, og her er III.8 syg grundet en mutation i APC-genet på kromosom 5. Denne mutation var som ovennævnt i opgave 2.1 en missense mutation med udskiftning af en aminosyre, som ændrer aminosyreselvansen. Af ovenstående mikrosatellit analyse ses det, at der er 2 alleler i blodprøven (som forventet), men kun 1 allel i tumorprøven. Dette kunne være indikation på, at mutationen har medført tab af en allel, eller med andre ord "loss of heterozygosity". For at opsummere er der hos person III.8 i APC-familien sket andet hit ifølge Knudsons Two Hit model, hvorfor personen udviser fænotypen og er syg.

Markøren D17S289 er tæt koblet til AXIN 2 hos person III.7 i AXIN2 familien. Her er det en nonsense mutation, som forårsager sygdommen, altså indsættelse af et præmaturot stopcodon. Der ses to alleler i blodprøven, som er forventeligt. Men derimod ses der også to alleler i tumorprøven, i modsætning til person III.8 fra APC familien. Dette kunne tyde på at sygdommen ikke skyldes tab af den raske allel og loss of heterozygosity, men derimod, nonsense mutationen og et tidligt stopcodon.

### Opgave 3

I en svensk analyse af 93 probander med non-syndromisk isoleret oligodonti påvistes 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.**

I generne *EDARADD* og *MSX1* ses der missense mutationer, hvor aminosyresekvensen ændres fra hvv. S til P og A til T. Dette kan klinisk sandsynligvis medføre oligodonti, men evt. i mildere grad end ved *AXIN2* genet, da der her enten ses en duplikation, som kan medføre ændring af læserammen (da duplikationen ikke er delelig med 3), eller en nonsense mutation. Nonsemutationen fører til indsættelse af et præmaturot stopcodon A758X, der kan ædelægge hele proteinets funktion, og dermed medføre en sværere grad af oligodonti. I *PAX9* genet med en større deletion på 13 basepar, som heller ikke er deleligt med 3, må det formodes at dette også kan medføre oligodontim da 13 ikke er deleligt med 3.

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

Man kunne undersøge om mutationen er en silent eller synonym mutation, hvor det ændrede baser ikke medfører en ændring af aminosyrerækkefølgen. Altså om mutationen er neutral og ikke ha nogen betydning. Man kunne eventuelt også se på de miljømæssige faktorer der spiller ind, og se på heritabiliteten af sygdommen. Derudover skal det undersøges hvor varianten er placeret. Er den eksempelvis placeret på X-kromosomet kan det betyde at den ved en recessiv arvegange ikke vil komme til udtryk hos kvinder, med derimod hos mænd gennem raske kvindelige bærere.

## 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.

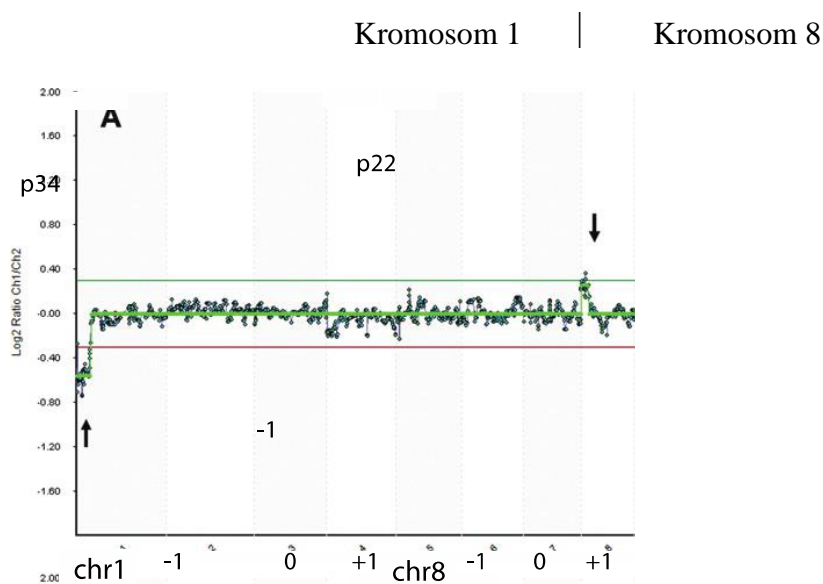
### 1. (P) Hvad er fordelene ved at benytte arrayCGH fremfor klassisk kromosomanalyse?

Ved array CGH er det muligt at påvise ukendte mikrodeletioner og mikroduplikationer. Disse vil nogle gange være for små til at detektere med en almindelig kromosomanalyse, hvor man ser på patientens karyogrammer.

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

Array CGH kan kun detektere hvis der er tab af genmateriale eller hvis der er mere genmateriale end hos kontrol DNA'et. Denne metode vil dermed ikke kunne detektere translokationer (Robertsonske eller reciprokke) eller inversioner samt insertioner. Dette kunne eksempelvis være en patient som har en balanceret Robertsons translokation mellem kromosom 21 og kromosom 15, som array CGH ikke ville kunne spotte. Selvom patienten er rask ville hun kunne give denne translokation videre på ubalanceret form til sit afkom.

### 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.



Når Array CGH viser et grønt signal betyder det at der er sket en duplikation. I drengens tilfælde er der sket en duplikation af kromosom 8 i området p22, og en deletion af kromosom 1 i området p34. Denne kombination kan opstå hvis man nedarver en translokation på ubalanceret form fra sine forældre, selvom de kan være fænotypiske raske, som følge af non-disjunction.

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

Hvis en af forældrene har en balanceret reciprok translokation mellem kromosom 1 og kromosom 8:

- Faderen: 46, XY, t(1;8) (p34;p22)
- Moderen: 46, XX, t(1;8) (p34;p22)

Eller hvis en af forældrene har en balanceret Robertsonsk translokation:

- Faderen: 45, XY, der(1;8) (p34;p22)
- Moderen: 45, XX, der(1;8) (p34;p22)

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.**

Her ses det at forskellige mutationer i samme gen (hhv. loss of function mutationer og mikrodeletioner) forårsager samme sygdom, hvilket tyder på at den molekulære mekanisme bag dette er allel heterogenitet. Dog ses det at symptom-billedet er varierende med symptomer som læbe-fistler hos 80%, spalter hos ca. 50% og hypodonti hos 25% af VWS patienterne. Her kan der være tale om variabel ekspressivitet.

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.**

En mulig årsag til denne forskel i incidenser mellem den finske og andre europæiske befolkninger kan være genetisk drift og migration. Hos befolkninger i størstedelen Europa må det formodes. At der har været hyppig ind- og udvandring, i hvert fald sammenlignet med migrationen i Finland, hvor VWS er den mest almindelig monogene årsag til læbe-gane-spalte.