



Zespół Marfana i choroby podobne

Geny i zespoły genetyczne

Gen	Choroba/objawy	Sposób dziedziczenia	Znane warianty chorobotwórcze
ACTA2	Tętniaki aorty, Choroba Moyamoya disease, Wielonarządowa niewydolność mięśni gładkich	AD	19
COL3A1	Zespół Ehlersa-Danlosa	AD	487
COL5A1	Zespół Ehlersa-Danlosa	AD	84
COL5A2	Zespół Ehlersa-Danlosa	AD	21
FBN1	Zespół Marfana, Zespół MASS	AD	1349
FBN2	Arachnodaktylia (zespół Bealsa)	AD	42
MYH11	Tętniaki aorty	AD	13
SKI	Zespół Shprintzena-Goldberga	AD	16
SLC2A10	Zespół krętości tętnic	AR	21
SMAD3	Zespół Loeyesa-Dietza	AD	43
TGFB2	Zespół Loeyesa-Dietza	AD	35
TGFBR1	Zespół Loeyesa-Dietza, Rak jelita grubego	AD	38
TGFBR2	Zespół Loeyesa-Dietza, Rak jelita grubego	AD	58

Metodologia

Informacja na temat metody badania:

W pierwszej kolejności, z pobranej próbki krwi lub z białka parafinowego izolowany jest kwas deoksyrybonukleinowy (DNA), którego jakość i ilość jest określana w analizie spektrofotometrycznej i fluorymetrycznej. Po mechanicznej lub enzymatycznej fragmentacji, DNA jest wykorzystywany do stworzenia biblioteki, umożliwiającej oznaczenie, a następnie zsekwencjonowanie i analizę genów, które zostały wybrane w ramach zleconego panelu. Otrzymana biblioteka jest sekwencjonowana na sekwenatorze nowej generacji. Otrzymane wyniki zostają następnie poddane analizie bioinformatycznej i interpretacji klinicznej. Warianty genetyczne są identyfikowane z wykorzystaniem Burrows-Wheeler Aligner. Test umożliwia wykrycie 100% substytucji i 95% małych insercji i delecji.



Informacja na temat klasyfikacji wariantów:

W raporcie z badania przedstawiana jest informacja na temat wariantów zaklasyfikowanych jako warianty „potencjalnie patogenne” i „patogenne”, z uwagi na ich potencjalne znaczenie kliniczne. Zidentyfikowane warianty są klasyfikowane do następujących kategorii:

Wariant patogenny: znaleziona zmiana w sekwencji genu ma bezpośredni związek z powstawaniem choroby. Równocześnie, niektóre zmiany patogenne mogą nie mieć pełnej penetracji, tj. pojedyncza zmiana może być niewystarczająca do wywołania pełnoobjawowej choroby.

Wariant potencjalnie patogenny: znaleziona zmiana w sekwencji genu jest z dużym prawdopodobieństwem związana z powstawaniem choroby, jednakże udowodnienie tego związku nie jest możliwe w oparciu o aktualnie dostępne dane naukowe. Potwierdzenie patogenności wariantu wymaga dodatkowych badań i dowodów; nie można wykluczyć, że dalsze badania wykażą, że znaleziona zmiana ma niewielkie lub żadne znaczenie kliniczne.

Wariant o nieznannej patogenności: w oparciu o aktualnie dostępne dane naukowe nie ma możliwości określenia znaczenia znalezionej zmiany.

Wariant potencjalnie łagodny: znaleziona zmiana w sekwencji genu najprawdopodobniej nie ma związku z powstawaniem choroby, jednakże w oparciu o aktualnie dostępne dane naukowe nie ma możliwości potwierdzenia łagodności zmiany. Potwierdzenie klinicznego znaczenia wariantu wymaga dodatkowych badań i dowodów; nie można wykluczyć, że dalsze badania wykażą, że znaleziona zmiana ma znaczenie kliniczne i prowadzi do rozwinięcia choroby

Wariant łagodny: znaleziona zmiana nie ma związku z powstawaniem choroby

Zidentyfikowane warianty genetyczne klasyfikowane są w oparciu o wytyczne opracowane przez American College of Medical Genetics and Genomics i American Association for Molecular Pathology (S. Richards, Genet Med. 2015 May;17(5):405-24). W klasyfikacji wariantów brane są pod uwagę następujące kryteria:

- wcześniejsza identyfikacja wariantu u osób obciążonych chorobą
- wpływ wariantu na powstawanie funkcjonalnego produktu genu:
 - określony w analizach bioinformatycznych
 - potwierdzony w badaniach in vitro/in vivo
- lokalizacja wariantu (ekson/intron, domena funkcjonalna)
- zmiana *de novo*/dziedziczna
- częstość występowania wariantu w populacji ogólnej (każdy wariant występujący z częstością >5% zgodnie z Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project lub Exome Aggregation Consortium jest klasyfikowany jako zmiana łagodna)
- częstość występowania wariantu w populacji ogólnej w stosunku do populacji osób chorych

Ostateczna klasyfikacja wariantów prowadzona jest w oparciu o sumę wymienionych kryteriów. Przeszukiwane bazy danych obejmują: 1000GP, ClinVar, ConsensusPathDB, Exome Aggregation Consortium, Exome Variant Server, FATHMM, GO (Gene Ontology), GTEx (Genotype-Tissue Expression), GWAS (Genome Wide Association Study), HGMD, KEGG, MetaLR, MetaSVM, MutationAssessor, MutationTaster, OMIM, PolyPhen-2, PROVEAN, SIFT, SnpEff, dbNSFP, UniProt, VEP (Variant Effect Predictor).



Ograniczenia badania:

Wszystkie technologie sekwencjonowania mają swoje ograniczenia. Zlecane badanie jest wykonywane z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji (NGS) i ma na celu zbadanie regionów kodujących i splicingowych zleconych genów. Chociaż stosowane techniki sekwencjonowania oraz późniejsze analizy bioinformatyczne są ukierunkowane na ograniczenie znaczenia sekwencji pseudogenów, to jednak obecność wysoce homologicznych sekwencji genowych może nadal sporadycznie zakłócać zdolność identyfikacji patogennych alleli, jak i delecji/duplikacji. Sekwencjonowanie Sangera jest metodą wykorzystywaną do potwierdzania wariantów, które uzyskały niższe parametry jakości. Analizy delecji/duplikacji wskazują na zmiany ilościowe DNA obejmujące minimum jeden ekson i zawsze wymagają potwierdzenia innymi metodami (qPCR lub MLPA). Wykonane analizy nie są przeznaczone do wykrywania pewnych typów zmian genomowych, jak translokacje, inwersje, mutacje dynamiczne (np. zwiększenie ilości powtórzeń trzynukleotydowych), zmian w regionach regulatorowych czy intronowych. Jeśli raportowane jest zwiększenie liczby powtórzeń dwu- czy trzynukleotydowych, to trzeba założyć, że dokładna liczba powtórzeń nie jest precyzyjna. Przeprowadzane badanie nie jest przeznaczone do wykrywania mozaikowości somatycznych, a analizy mutacji somatycznych powinny być prowadzone w kontekście sekwencji DNA germinalnego.

Nie ma możliwości wykluczenia obecności mutacji w genach i rejonach innych niż objęte wykonywanym badaniem, a także zmian liczby kopii genu. Raport z badania zawiera informację na temat zmian w sekwencji genów zidentyfikowanych w oparciu o porównanie z aktualnymi sekwencjami referencyjnymi zdeponowanymi w bazach danych NCBI Nucleotide i Ensembl. Testy są opracowywane w *Warsaw Genomics* do celów klinicznych. Wszystkie otrzymywane wyniki badań są interpretowane i analizowane przez ekspertów naukowych i medycznych *Warsaw Genomics*.

Jak zlecić badanie

Informacja na temat metody badania:

Badanie można zlecić bezpośrednio na stronie internetowej Warsaw Genomics, poprzez zaznaczenie wybranego testu. Zalecamy jednak, by przed każdym badaniem skonsultować się z lekarzem, który pomoże w wybraniu odpowiedniego testu diagnostycznego, wyjaśni możliwości i ograniczenia testów genetycznych a także przedstawi możliwe wyniki i konsekwencje przeprowadzenia badania.

Czas realizacji badania: od 4 do 10 tygodni. Będziemy informować o kolejnych etapach analizy.





KONSULTACJA LEKARSKA

Wybranie właściwego testu genetycznego lub indywidualnego zestawu genów



REJESTRACJA

Wypełnienie [formularza zlecenia testu](#). Formularz wypełnia pacjent lub wybrany przez niego lekarz.



MATERIAŁ DO BADAŃ

Badania wykonujemy w oparciu o DNA, który izolujemy z przesłanej nam krwi. Dopuszczamy możliwość przesyłania DNA przez certyfikowane jednostki medyczne; w takich przypadkach prosimy o kontakt.



POBRANIE KRWI

Krew (4ml na EDTA) należy oddać w jednym ze współpracujących z nami punktów pobrań: <https://badamygeny.pl/#1/lab/oratoria>
Na pobranie należy zabrać wydrukowany i podpisany formularz zlecenia badania.



OPLĄCENIE TESTU

Po wykonaniu testu



WYNIK BADANIA

zostanie przekazany osobie zlecającej test - pacjentowi lub wybranemu przez niego lekarzowi



KONSULTACJA LEKARSKA

Jak przekazać materiał do badania?

Badanie genetyczne z krwi:

1. Krew należy pobrać do **jednej** probówki z EDTA (nie pobierać do probówek na skrzep, ani na heparynę litową). Pobranie krwi może nastąpić w dowolnej godzinie, pacjent nie musi być na czczo:
 - osoba dorosła - ok. 4 ml krwi żyłnej do izolacji DNA (pobraną krew należy dokładnie wymieszać z antykoagulantem i przechowywać w temperaturze 4°C)
 - dzieci - ok. 4 ml (minimalna ilość 2 ml) krwi żyłnej do izolacji DNA (pobraną krew należy dokładnie wymieszać z antykoagulantem i przechowywać w temperaturze 4°C)
 - niemowlę - ok. 1,5 - 2 ml krwi żyłnej do izolacji DNA (pobraną krew należy dokładnie wymieszać z antykoagulantem i przechowywać w temperaturze 4°C)
2. Probówkę należy opisać imieniem i nazwiskiem i zabezpieczyć (można zakleić taśmą klejącą).
3. Zabezpieczoną probówkę wraz z wypełnionym i podpisanym formularzem zlecenia badania należy zapakować i wysłać zgodnie z instrukcją dostępną pod adresem: https://badamygeny.pl/BADAMY_GENY/docs/instrukcja-wysylki-probki-krwi.pdf
4. Jeśli Pacjent miał przetaczaną krew, należy odczekać min. 2 miesiące przed pobraniem krwi do badania genetycznego.

Badanie genetyczne z białka parafinowego (profilowanie nowotworu):

1. Należy pobrać łącznie 4 ml krwi do **jednej** probówki z EDTA (nie pobierać do probówek na skrzep, ani na heparynę litową). Pobranie krwi może nastąpić w dowolnej godzinie, pacjent nie musi być na czczo. Pobraną krew należy dokładnie wymieszać z antykoagulantem i przechowywać w temperaturze 4°C.
2. Probówkę należy opisać imieniem i nazwiskiem i zabezpieczyć (można zakleić taśmą klejącą).
3. **Uzyskanie tkanki nowotworowej** do badania w postaci:
 - bloczka parafinowego zawierającego wycinek nowotworu wraz z uzyskanym z bloczka preparatem histopatologicznym (szkiełkiem) umożliwiającym zlokalizowanie fragmentu tkanki nowotworowej,
 - albo wycinka tkanki nowotworowej z bloczka parafinowego o wymiarach min. 4x4x1mm, zawierającego wyłącznie tkankę nowotworową.
4. Próbkę należy opisać imieniem i nazwiskiem i zabezpieczyć (można zakleić taśmą klejącą).
5. Zabezpieczony materiał wraz z wypełnionym i podpisanym formularzem zlecenia badania należy zapakować i wysłać zgodnie z instrukcją dostępną pod adresem: https://badamygeny.pl/BADAMY_GENY/docs/instrukcja-wysylki-probki-krwi.pdf