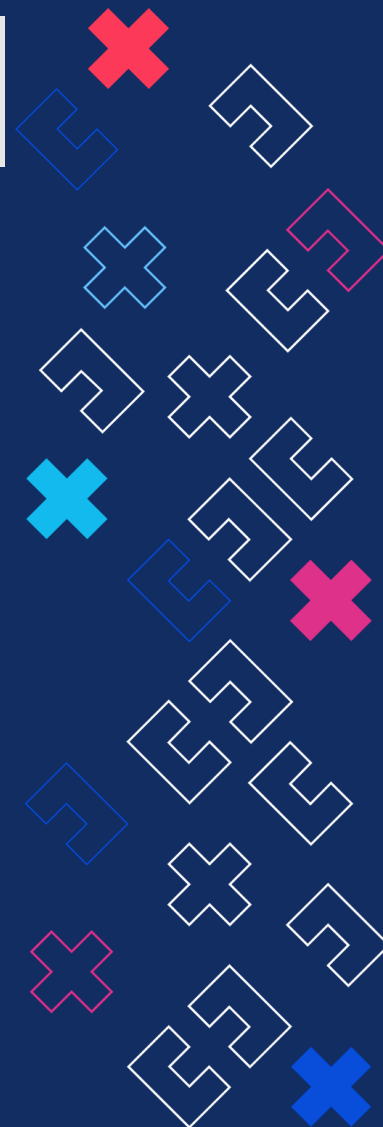


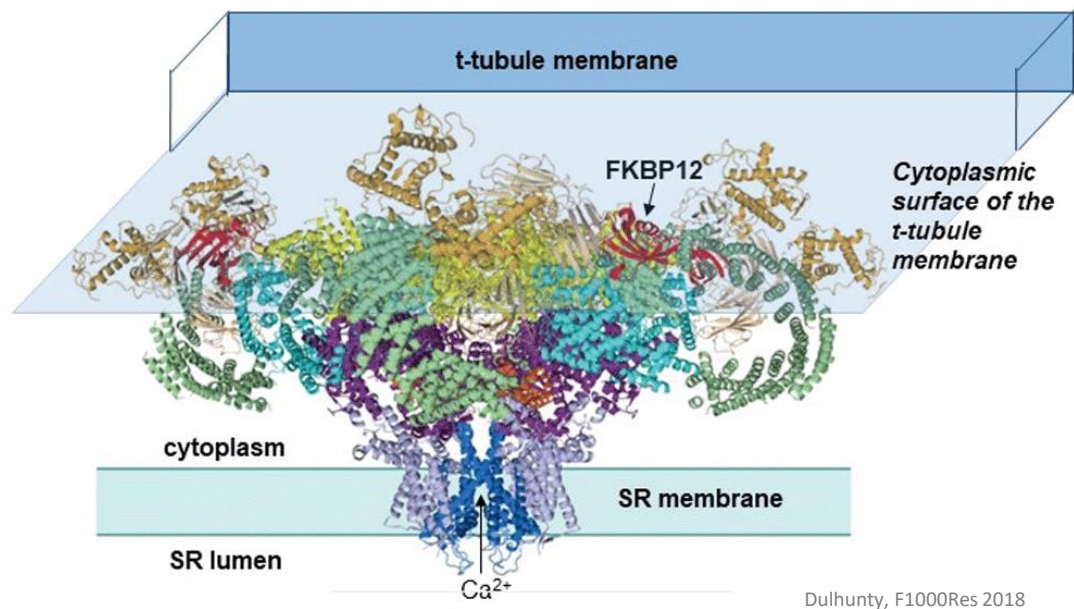
Maligní hypertermie

Jak nám pomáhá genetika?

Jana Zídková

Centrum molekulární biologie a genetiky, Fakultní nemocnice Brno
zidkova.jana@fnbrno.cz

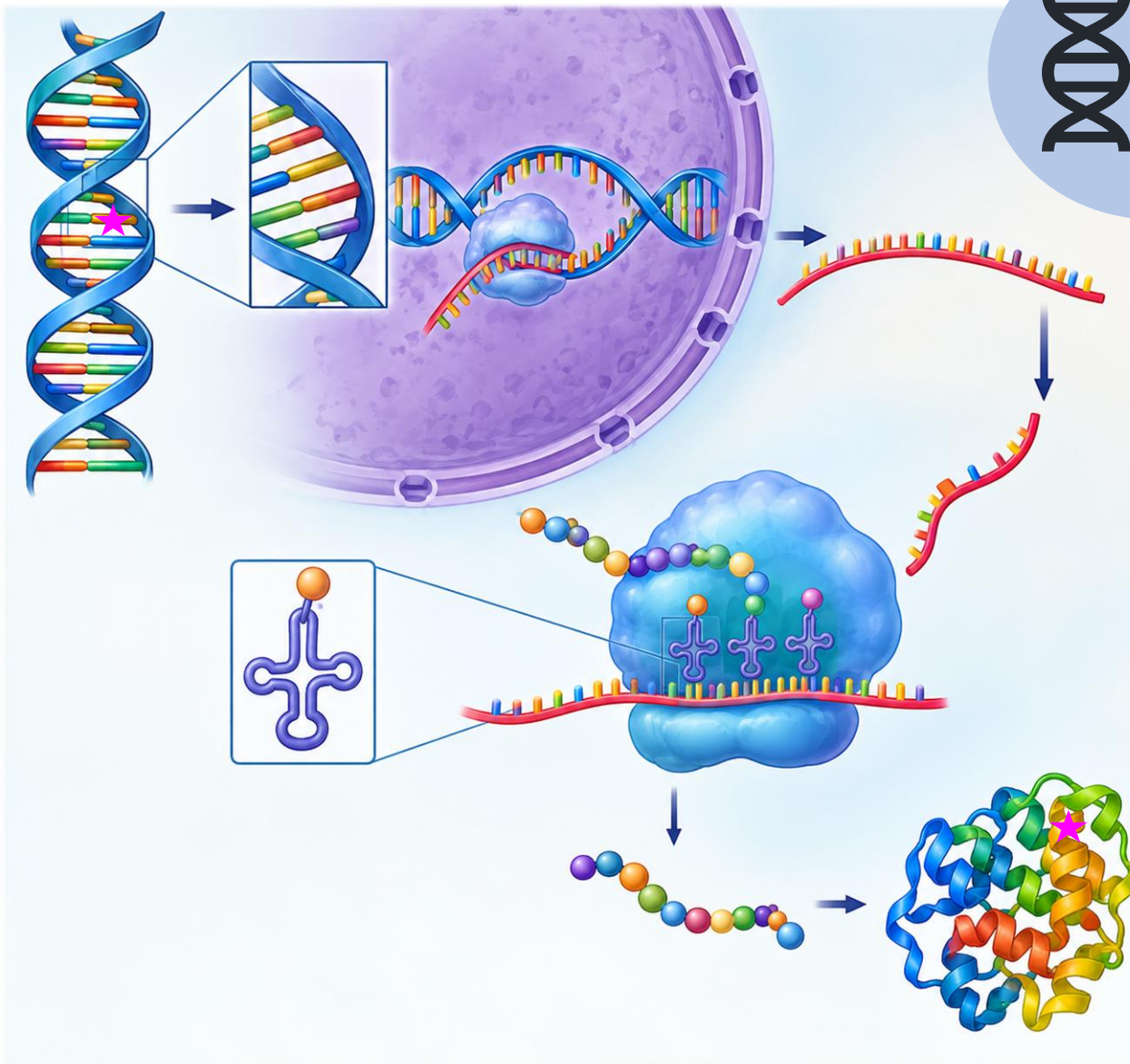




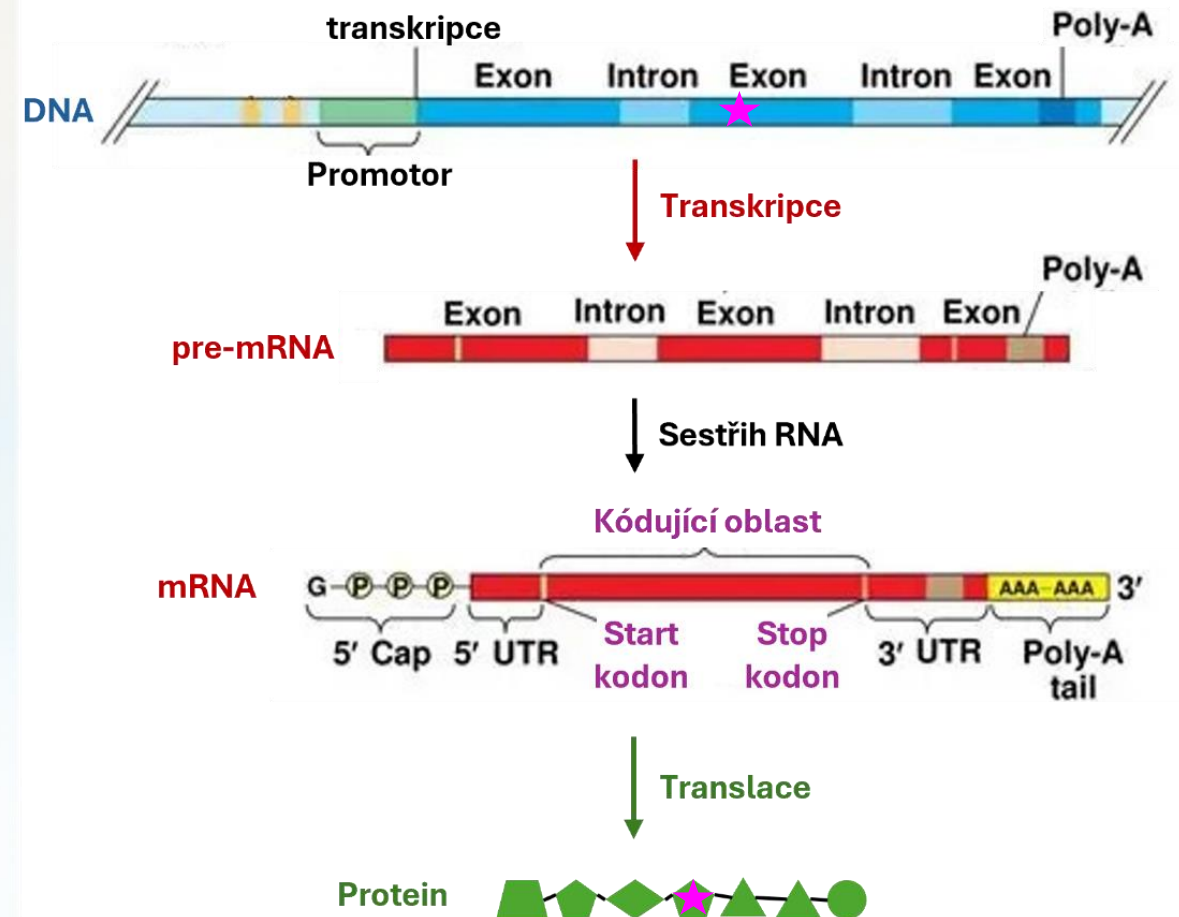
porucha regulace kalciového
metabolismu svalové buňky

nadměrné uvolnění Ca^{2+} a
následná hypermetabolická reakce

ryanodinový receptor 1, gen *RYR1*



identifikace kauzálních sekvenčních variant v genech spojených s MH



Odběr materiálu

➤ periferní krev



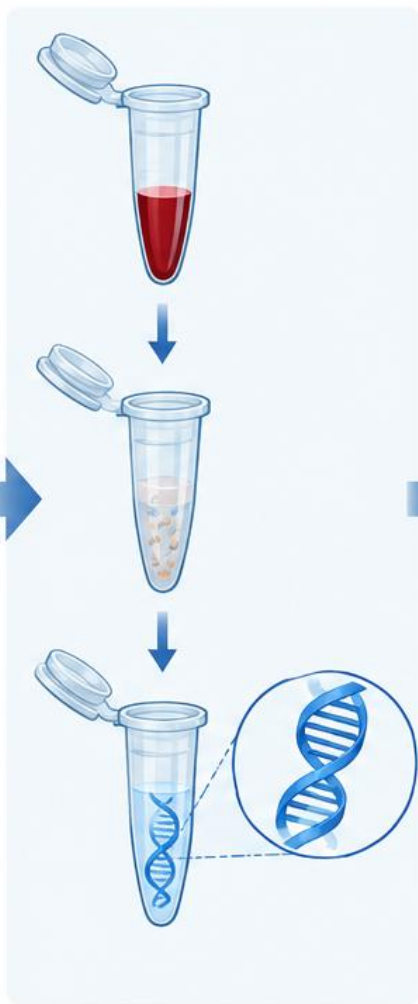
Odběr materiálu

- periferní krev



Izolace

- DNA

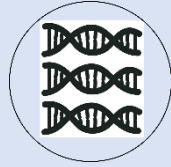
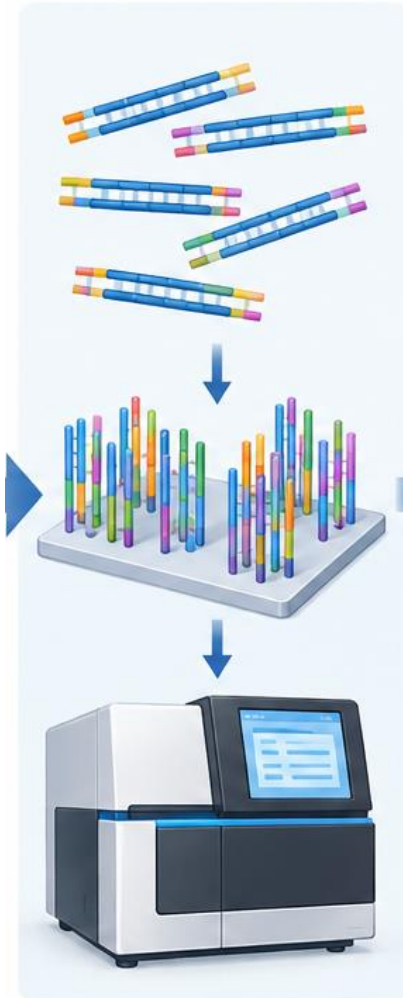


Analyzovaný materiál:

- periferní krev
- výzkum – svalová biopsie

Izolujeme:

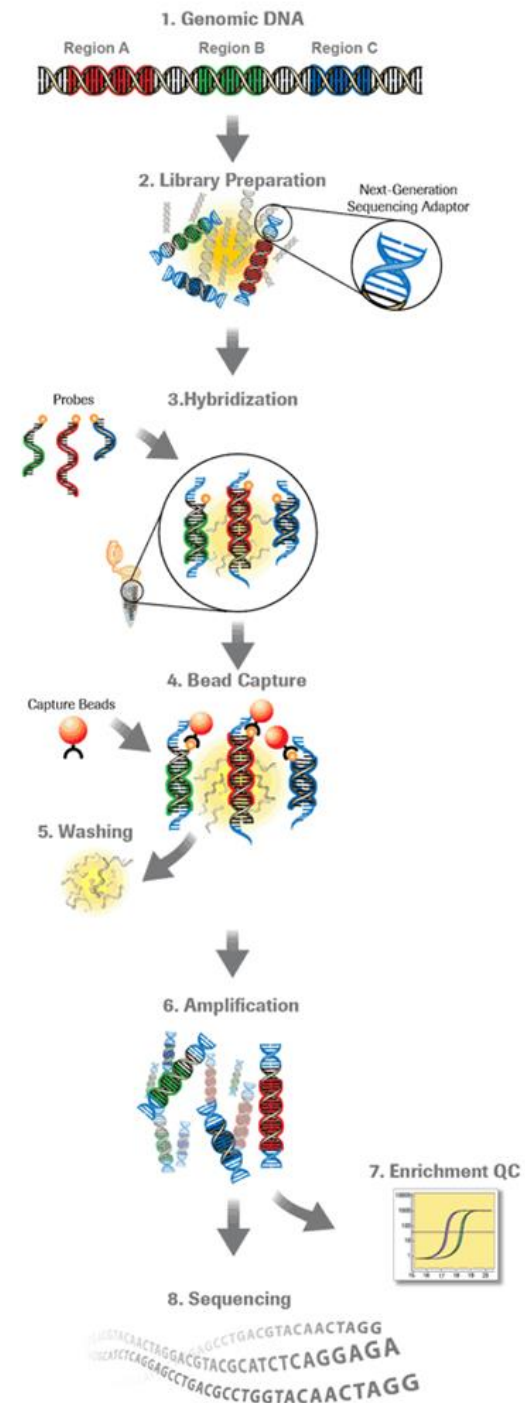
- DNA
- výzkum – RNA ze svalu

Laboratorní
metody

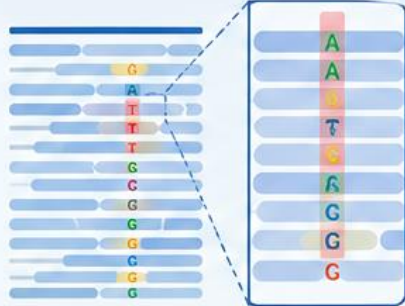
multi-gene testování

Sekvenování nové generace
(Next generation sequencing, NGS)

- vybraná skupina genů = targeted panel sequencing
- analýza celého exomu = whole exome sequencing, WES
- analýza celého genomu = whole genome sequencing



Interpretace dat



referenční sekvence

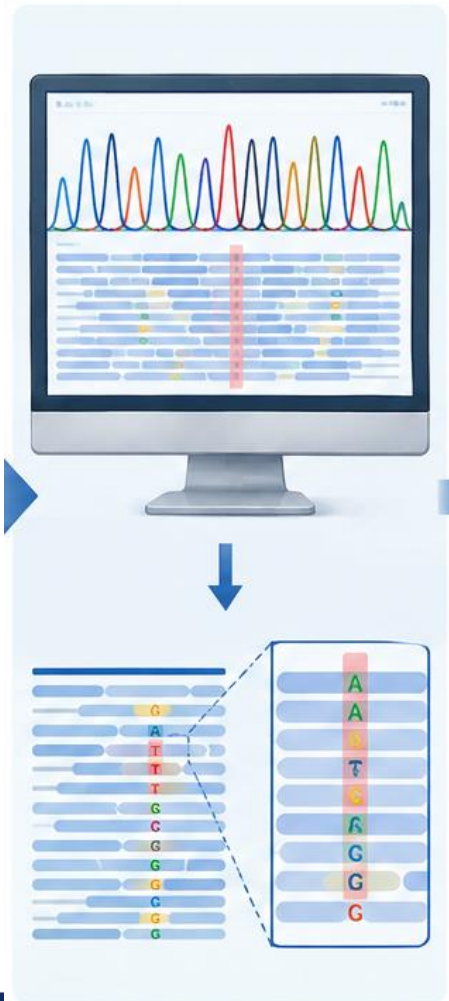


sekvenční varianta

sekvenční varianty – rozdíl vzhledem k referenční sekvenci

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG			
1	Nazev	Ceistno	Cislo radii	Chromosom Region	Type	Reference Allele	Reference Zygosity	Frequency	Forward	Reverse	Forward	Read cov	Read cov	Genotype	Homopol	QUAL	Hom_oa	descript	gene	(Mon Coding re	Amnio ac	Coding re	Mane (if	Non-synp	AF	ESP	ci	AF	EXAC	AF	Tp ci	CLNDN	ci	CLNSIG	
2	NK94548u	1784	1	1	955597	SNV	G	T	No	Homozyg	49.3655	348	305	a.6708	653	1310	C/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.456G>T; NM_001_0013	1985	No		0.42418	0.82525	not_provi	Benign					
3	NK94548u	1480	2	1	977330	SNV	T	C	No	Homozyg	99.7817	371	297	a.4461	668	669	C/C	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.1178-T>C; NM_001_0013	1985	-		0.85259	0.91656	0.88518	not_speci	Benign				
4	NK94548u	2775	3	1	979854	SNV	CT	-	No	Homozyg	97.807	50	78	b.35967	211	420	complex	No	133	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.338-T>C; NM_001_0013	1985	-		0.39941	0.50694	0.47923	not_speci	Benign				
5	NK94548u	1388	4	1	979748	SNV	A	G	No	Homozyg	46.4758	156	164	a.4875	320	310	C/G	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.1021-T>C; NM_001_0013	1985	Yes		0.03107	0.0302	0.01837	not_provi	Benign				
6	NK94548u	3473	5	1	981931	SNV	A	G	No	Homozyg	98.7603	183	135	a.2453	318	321	G/G	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.306G>A; NM_001_0013	1985	No		0.78022	0.87675	0.79772	not_provi	Benign				
7	NK94548u	3477	6	1	982941	SNV	C	No	Homozyg	100	340	322	a.4864	662	662	C/C	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.3517-T>T; NM_001_0013	1985	-		0.76657		0.79992	not_provi	Benign					
8	NK94548u	3478	7	1	982994	SNV	T	C	No	Homozyg	99.2593	423	369	a.6591	792	796	C/C	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.3558T>C; NM_001_0013	1985	No		0.79117	0.89893	0.83586	not_provi	Benign				
9	NK94548u	2791	8	1	984302	SNV	T	C	No	Homozyg	50.5747	144	146	a.9955	290	573	C/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.4161T>C; NM_001_0013	1985	No		0.45863	0.62948	0.54573	not_speci	Benign				
10	NK94548u	2698	9	1	985266	SNV	C	T	No	Homozyg	51.8041	135	156	a.6392	291	558	C/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.4745-T>C; NM_001_0013	1985	-		0.40222	0.54365	0.49521	not_speci	Benign				
11	NK94548u	179	10	1	985797	SNV	A	G	No	Heterozyg	45.6855	121	136	a.7082	257	556	A/G	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.4977-T>A; NM_001_0013	1985	-		0.02085	0.01924	0.01078	not_speci	Benign				
12	NK94548u	3471	11	1	987200	SNV	C	T	No	Homozyg	100	339	381	a.7083	720	720	T/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.5663A>C; NM_001_0013	1985	-		0.75692	0.87569	0.78874	not_provi	Benign				
13	NK94548u	3134	12	1	990280	SNV	C	T	No	Homozyg	47.4576	176	163	a.48083	339	729	C/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.6126C>T; NM_001_0013	1985	No		0.57915	0.63764	0.58526	not_provi	Benign				
14	NK94548u	1761	13	1	990380	SNV	C	T	No	Heterozyg	48.0583	143	143	0.5	286	601	C/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.19C>T; NM_001_0013	1985	-		0.34176	0.33342	0.34435	not_provi	Benign				
15	NK94548u	1810	14	1	990417	SNV	T	C	No	Heterozyg	45.202	130	128	a.9612	258	571	C/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.56T>C; NM_001_0013	1985	-				0.38399	not_provi	Benign				
16	NK94548u	3344	15	1	990517	SNV	C	T	No	Homozyg	99.7691	303	292	a.9076	595	596	T/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.156C>T; NM_001_0013	1985	-				0.91793	Congenita	Benign				
17	NK94548u	2973	16	1	990773	SNV	C	T	No	Homozyg	100	346	375	a.9789	721	721	T/T	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.1412C>T; NM_001_0013	1985	-										
18	NK94548u	2973	17	1	990806	SNV	G	A	No	Heterozyg	99.8008	353	383	a.7962	736	737	A/A	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.1445G>A; NM_001_0013	1985	-										
19	NK94548u	2985	18	1	990984	SNV	G	A	No	Homozyg	100	342	310	a.7456	652	652	A/A	No	200	AGRN	agrin	AGRN	NM_001305275.1:c.1623G>A; NM_001_0013	1985	-										
20	NK94548u	484	19	1	1374834	SNV	A	G	No	Heterozyg	48.7047	140	113	a.4464	253	526	A/G	No	200	VWA1	von Wille VWA1	NM_022834.4:c.1005A>G; NM_001_0228	2028	No		0.5299	0.66973	not_provi	Benign						
21	NK94548u	345	20	1	1375185	SNV	G	C	No	Heterozyg	48.2639	286	325	a.0689	611	1266	C/G	No	200	VWA1	von Wille VWA1	NM_022834.4:c.186C>G; NM_001_0228	2028	No		0.5	0.46266	not_provi	Benign						
22	NK94548u	455	21	1	1375810	SNV	C	G	No	Heterozyg	40.0735	61	91	a.0132	152	400	C/G	No	200	VWA1	von Wille VWA1	NM_022834.4:c.1643C>G; NM_001_0228	2028	-											
23	NK94548u	485	22	1	1376214	SNV	C	G	No	Heterozyg	47.651	155	159	a.09363	314	668	C/G	No	200	VWA1	von Wille VWA1	NM_022834.4:c.1047C>G; NM_001_0228	2028	-											
24	NK94548u	436	23	1	1376567	SNV	A	G	No	Heterozyg	48.367	229	215	a.04823	444	941	A/G	No	200	VWA1	von Wille VWA1	NM_022834.4:c.1400A>G; NM_001_0228	2028	-											
25	NK94548u	346	24	1	1378173	SNV	G	A	No	Heterozyg	49.7807	168	176	a.08837	344	684	A/G	No	200	VWA1	von Wille VWA1	NM_022834.4:c.1300G>A; NM_001_0228	2028	-											
26	NK94548u	1459	25	1	1301721	SNV	C	T	No	Heterozyg	48.0263	179	144	a.04582	323	674	C/T	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.444C>T; NM_001_0221	2021	No			0.20489	0.3295	0.34046	not_provi	Benign				
27	NK94548u	3083	26	1	1328858	SNV	T	C	No	Heterozyg	99.7423	323	252	a.034826	575	576	C/C	No	200	PRDM16	NM_0221	NP_07135	NP_07135	NM_0221	2021	Yes		0.87774	0.94509	Left_ventr	Benign				
28	NK94548u	1405	27	1	1342804	SNV	G	T	No	Heterozyg	47.5655	68	114	a.03763	182	380	C/T	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.3284T>G; NM_001_0221	2021	-		0.31514		0.37939	not_provi	Benign					
29	NK94548u	2559	28	1	1352227	SNV	T	C	No	Homozyg	99.2991	327	313	a.48906	640	643	G/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.1852T>C; NM_001_0221	2021	-											
30	NK94548u	2683	29	1	1352347	SNV	T	C	No	Homozyg	99.7812	346	333	a.09403	679	680	C/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.1972T>C; NM_001_0221	2021	-											
31	NK94548u	2683	30	1	1352503	SNV	T	C	No	Homozyg	98.6767	408	363	a.47219	773	781	C/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.12128G>C; NM_001_0221	2021	-											
32	NK94548u	2653	31	1	1352524	SNV	T	C	No	Homozyg	99.6364	426	393	a.7985	819	822	C/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.12166T>C; NM_001_0221	2021	-											
33	NK94548u	2683	32	1	1352579	SNV	T	C	No	Homozyg	99.8361	475	405	a.06023	880	881	C/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.1204T>C; NM_001_0221	2021	-											
34	NK94548u	2666	33	1	1352616	Deletion	T	-	No	Heterozyg	90.4762	360	424	a.05677	786	787	T>del	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.1240G>del; NM_001_0221	2021	-											
35	NK94548u	2675	34	1	1352784	SNV	A	G	No	Homozyg	99.4652	367	459	a.04431	826	830	G/G	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.1240A>G; NM_001_0221	2021	-											
36	NK94548u	2676	35	1	1355880	SNV	A	G	No	Homozyg	99.5816	355	356	a.4993	711	713	G/G	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.13515A>G; NM_001_0221	2021	-											
37	NK94548u	2676	36	1	1355949	SNV	A	G	No	Homozyg	99.5754	339	353	a.09888	692	694	G/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.13574A>G; NM_001_0221	2021	-											
38	NK94548u	2676	37	1	1354495	SNV	T	C	No	Homozyg	99.5833	159	191	a.05429	350	351	C/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.14220T>C; NM_001_0221	2021	-											
39	NK94548u	2676	38	1	1354615	SNV	T	C	No	Homozyg	99.5575	150	182	a.05181	332	333	C/C	No	200	PRDM16	PR/SET of PRDM16	NM_022114.3:c.14240T>C; NM_001_0221	2021	-											
40	NK94548u	878	39	1	1E407	SNV	C	G	No	Heterozyg	52.381	84	75	a.0717	159	308	C/G	No	200	KIF1B	kinesin fa KIF1B	NM_015074.3:c.285C>G; NM_001_0150	2013	No		0.22728		0.23003	not_provi	Benign					
41	NK94548u	878	40	1	1E407	SNV	C	T	No	Heterozyg	56.6154	124	173	a.01751	297	506	C/T	No	200	KIF1B	kinesin fa KIF1B	NM_015074.3:c.720-T>C; NM_001_0150	2013	-		0.24819		0.25399	Pheochro	Benign					
42	NK94548u	878	41	1	1033921C	Deletion	AT	-	No	Heterozyg	48.8806	101	107	a.08558	208	432	complex	No	200	KIF1B	kinesin fa KIF1B	NM_015074.3:c.1162-1026	1	NM_001_0150	2013	-				Charcot-A	Benign				
43	NK94548u	877	42	1	1E407	SNV	C	T	No	Heterozyg	51.6539	129	185	a.01083	314	609	C/T	No	200	KIF1B	kinesin fa KIF1B	NM_015074.3:c.1639T>C; NM_001_0150	2013	-		0.25942	0.27874	0.26398	Neurobl	Benign					
44	NK94548u	884	43	1	1E407	SNV	C	A	No	Heterozyg	48.0663	152	123	a.04727	275	558	A/C	No	200	KIF1B	kinesin fa KIF1B	NM_015074.3:c.5163C>A; NM_001_0150	2013	No		0.23051	0.27166	0.23163	Neurobl	Benign					

Interpretace dat

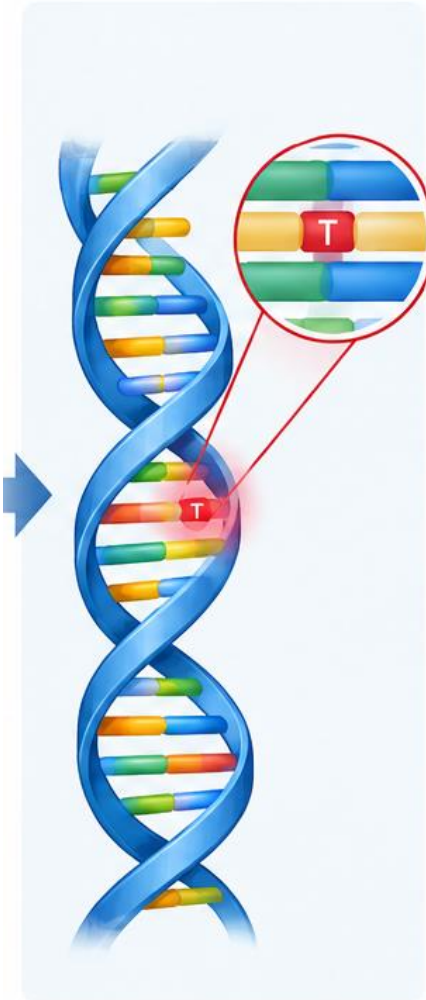


1. Sekvenční varianty benigní
2. Sekvenční varianty pravděpodobně benigní
3. Sekvenční varianty nejasného významu (VUS)
4. Sekvenční varianty pravděpodobně patogenní
5. Sekvenční varianty patogenní

Výsledek

Výsledková zpráva

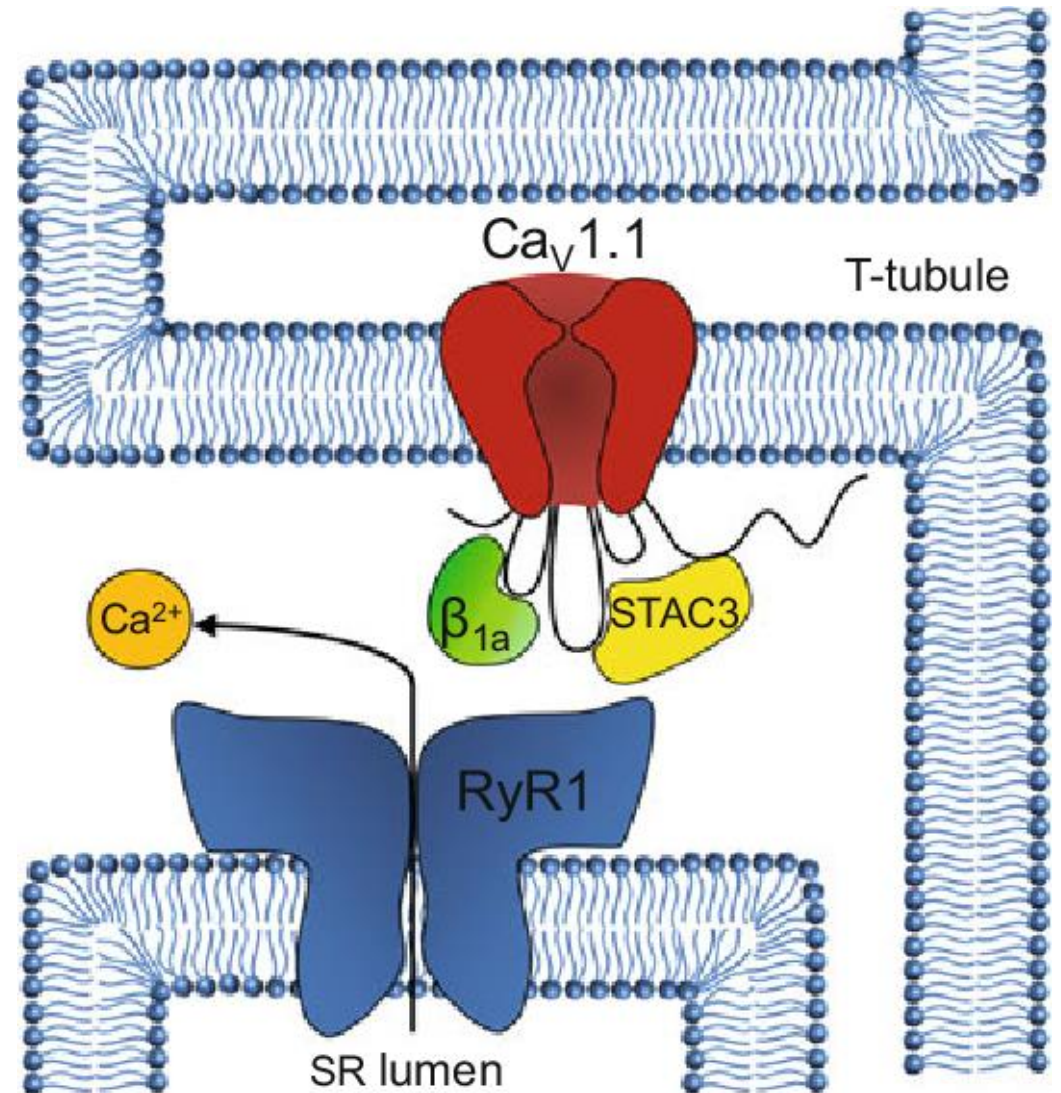
3. Sekvenční varianty nejasného významu (VUS)
4. Sekvenční varianty pravděpodobně patogenní
5. Sekvenční varianty patogenní



RYR1 většina případů

CACNA1S 2 varianty

STAC3 spojeno s fenotypem
kongenitální myopatie

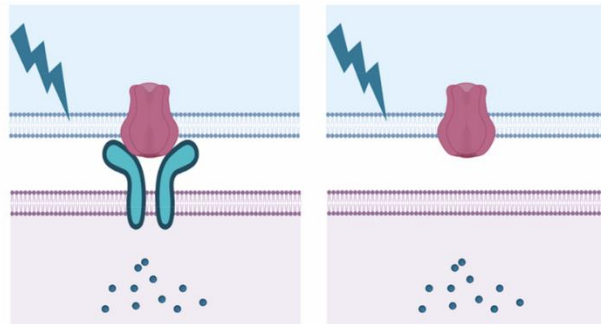


Onemocnění spojená s *RYR1*

- dominantní kongenitální myopatie
- recesivní kongenitální myopatie
- maligní hypertermie (AD)

Typy variant v *RYR1*

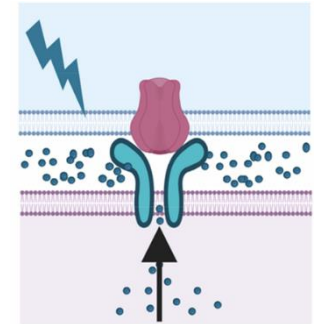
loss of function



snížené uvolňování Ca^{2+} a
snížená svalová kontrakce

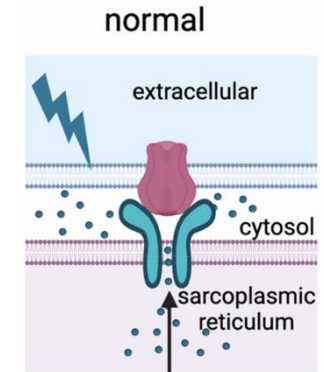
předčasné ukončení syntézy proteinu
záměna aminokyseliny

gain of function



zvýšené uvolňování Ca^{2+} a
hypermetabolická reakce

záměna aminokyseliny



Onemocnění spojená s *RYR1*

- dominantní kongenitální myopatie
 - recesivní kongenitální myopatie
-
- maligní hypertermie (AD)

Typy variant v *RYR1*

záměna aminokyseliny

```
graph LR; A[záměna aminokyseliny] -- green --> B[dominantní kongenitální myopatie<br/>recesivní kongenitální myopatie]; A -- orange --> C[maligní hypertermie (AD)]
```

Zaměření na geny *RYR1*, *CACNA1S*, *STAC3*

Interpretace variant:

- European Malignant Hyperthermia Group 2025 guidelines for the investigation of malignant hyperthermia susceptibility
- ClinGen - Malignant Hyperthermia Susceptibility Variant Curation Expert Panel
- EMQN Best Practice Guidelines for Genetic Testing and Reporting in RYR1-related disorders

Reportujeme:

- Sekvenční varianty nejasného významu (VUS)
- Sekvenční varianty pravděpodobně patogenní
- Sekvenční varianty patogenní

Výsledek genetiky: tři situace

Patogenní / pravděpodobně patogenní varianta

-> predispozice k MH; kaskádové prediktivní testování v rodině

MHG = pozitivní genetický výsledek

MHS = pozitivní IVCT

Výsledek genetiky: tři situace

Patogenní / pravděpodobně patogenní varianta

-> predispozice k MH; kaskádové prediktivní testování v rodině

VUS – varianta nejasného významu

-> nepotvrzuje ani nevylučuje predispozici; nelze použít pro prediktivní testování v rodině

Výsledek genetiky: tři situace

Patogenní / pravděpodobně patogenní varianta

-> predispozice k MH; kaskádové prediktivní testování v rodině

VUS – varianta nejasného významu

-> nepotvrzuje ani nevylučuje predispozici; nelze použít pro prediktivní testování v rodině

Negativní genetický výsledek – pouze benigní varianty

-> nevylučuje MH; zohlednit kliniku, rodinnou anamnézu a indikaci IVCT

Pacient indikován ke genetickému vyšetření

Provedeno celoxomové sekvenování (zahrnuje *RYR1*)

Detekována patogenní / pravděpodobně patogenní varianta pro MH

MHG = pozitivní genetický výsledek -> predispozice k MH

Rodina s MH historií

pozitivní výsledek = predispozice k MH

negativní výsledek – nevylučuje MH

Rodina s proband – náhodný nález

pozitivní výsledek = predispozice k MH

**negativní výsledek – pravděpodobnost MH
jako běžně v populaci**

pozitivní genetický výsledek = predispozice k MH



negativní genetický výsledek $\neq$ negativní riziko



negativní genetický výsledek nevylučuje MH!!!

*Know the gene.
Recognize the risk.*

