

Diagnostika thanatoforické dysplazie pomocí vyšetření klinického exomu

Diagnosis of thanatophoric dysplasia using clinical exome screening

M. Holub¹, M. Sekowská¹, D. Smetanová¹, M. Koudová¹, K. Sobolová¹, A. Šinská², H. Heřman³

¹ Centrum fetální medicíny a lékařské genetiky, GENNET, Praha

² Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Ústav pro péči o matku a dítě, Praha

Souhrn: Kostní dysplazie jsou širokou, heterogenní skupinou chorob. Thanatoforická dysplazie patří mezi nejčastější letální kostní dysplazie. Základem diagnostiky je kvalitní ultrazvukové vyšetření ve II. trimestru a nejnovější metody genetického testování vč. vyšetření klinického exomu. Znalost správné diagnózy je klíčová pro budoucnost plodu i páru.

Klíčová slova: skeletální dysplazie – klinický exom – thanatoforická dysplazie

Summary: Bone dysplasias are a broad, heterogeneous group of diseases. Thanatophoric dysplasia is a rare bone dysplasia, but it is the most common lethal skeletal dysplasias. The major role in diagnostics plays a high-quality ultrasound examination in the 2nd trimester and the latest methods of genetic testing, including clinical exome testing. Knowing the correct diagnosis is crucial for the future of the fetus and the couple.

Key words: skeletal dysplasia – whole exome – thanatophoric dysplasia

Úvod

Thanatoforická dysplazie je nejčastější letální kostní dysplazií. Poprvé byla popsána v roce 1967 [1]. Název pochází z řečtiny a znamená v překladu „smrt přinášející“. Incidence onemocnění je 1 : 20 000 až 1 : 50 000 porodů [2]. Jedná se o nejzávažnější formu dwarfizmu, postižení jedinci umírají v perinatálním období z důvodu respirační insuficience. Jsou popisovány i vzácné případy přežívání do pozdního dětství [3,4].

Thanatoforická dysplazie je autozomálně dominantně dědičná s úplnou penetrancí. Vzniká v důsledku *de novo* mutací zejména v exonech 7, 10, 15 a 19 genu *FGFR3*. Tento gen je lokalizován na krátkém raménku chromozomu 4. Patogenní varianty v tomto genu dávají vzniknout nezávislé tyrosinkináze a následně vedou ke zvýšené proliferaci a snížené apoptóze [5–8]. Onemocnění se může

projevit již v I. trimestru zkrácením končetin či vysokým šíjovým projasněním. Dominantními projevy vyjádřenými ve II. trimestru jsou krátké končetiny, úzký hrudník, krátká žebra, makrocefalie, prominující čelo, abnormality tvaru lebky, hypertelorismus, abnormality centrální nervové soustavy, platyspondylie a polyhydramnion. Často popisovaný znak, lebka tvaru trojlístku, se vyskytuje asi u 14 % postižených plodů a je dán časovou osifikací švů lebních kostí [9]. Onemocnění se dělí na dva typy:

- **Typ I** je charakteristický krátkými femury zakřivenými do tvaru telefonního sluchátka.
- Oproti tomu u **II. typu** jsou zkrácené femury rovné a zvětšená lebka má tvar trojlístku.

Pro postižené novorozence je typické zkrácení končetin, silná kůže se záhyby,

relativní makrocefalie, normálně velký trup, abnormality lebky, dysmorfie obličeje a generalizovaná hypotonie. Základem diagnostiky je ultrazvukové vyšetření (UZ) a genetické testování – microarray se zaměřením na oblast genu *FGFR3* a sekvenování nejčastějších mutací nebo celého genu *FGFR3*. Vhodnou metodou diagnostiky je i klinický exom, celoexomové multiparalelní sekvenování zaměřující se na 7 955 klinicky významných genů. Ideální je analýza tria (plod a oba rodiče) pomocí nástroje Exomizer dle předpokládaného typu dědičnosti a prioritizace závislé na fenotypu popsaném prostřednictvím jasně definovaných Human Phenotype Ontology termínů (HPO terms [10]), což umožní vybrat vhodné kandidátní varianty potenciálně kauzální pro fenotyp vyšetřovaného plodu. Ověření nalezených variant se provádí pomocí standardní



Obr. 1. Zkrácené a zakřivené femury.
Fig. 1. Shortened and curved femurs.

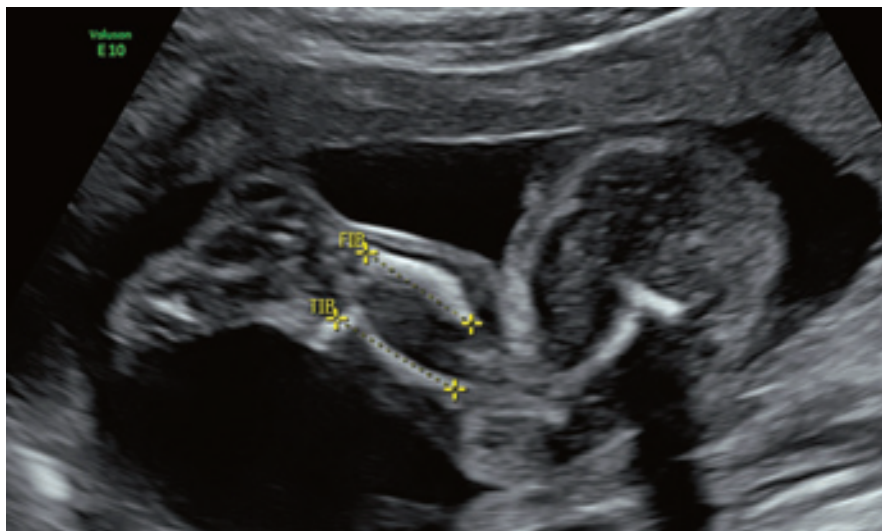


Obr. 3. 3D obličej plodu.
Fig. 3. 3D fetus face.

Sanger sekvenace. Terapie onemocnění není možná.

Kazuistika

Pacientka, 29 let, primipara, podstoupila kombinovaný test v I. trimestru na našem pracovišti s pozitivním výsledkem – riziko trizomie chromozomu 21 (morbus Down) bylo 1 : 282. Sonoanatomie plodu byla normální, šířové projasnění (NT – nuchal translucency) 2,20 mm. Biochemické vyšetření vykazovalo zvýšené fBhCG – 4,647 MoM a PAPP-A 0,796 MoM. Pacientka byla odeslána na genetickou konzultaci. Osobní a rodinná anamnéza pacientky byla geneticky nevýznamná. Pacientka nebyla v kontaktu s teratogenními látkami, neužívala žádné léky. Partner pacientky měl diagnostikovan Klippel-Trénaunay-Weber syndrom, jinak byla jeho osobní i ro-



Obr. 2. Atypické postavení bérce a výrazně zkrácené kosti dolní končetiny.
Fig. 2. Atypical position of the lower leg and significantly shortened bones of the lower limb.

dinná anamnéza bez genetické zátěže. Po genetické konzultaci bylo indikováno neinvazivní vyšetření nejčastějších trizomií chromozomu 21, 18 a 13 z krve matky (NIPT – neinvazivní prenatalní vyšetření), které bylo negativní (odchylky v rozložení volné DNA v mateřské plazmě neobjevily) a výsledné riziko m. Down bylo vyhodnoceno na méně než 1/50 000.

Následně pacientka přichází ve 21. týdnu gestace (20+6) k UZ vyšetření podrobné morfologie plodu. Při vyšetření zjišťujeme bilaterálně zkrácené humery, femury, kosti předloktí a bérce. Rozměry kostí byly pod 5. percentilem. Subjektivně se zdály širší a kratší dlaně, prsty byly bez deformit, ale krátké. Zkrácené femury byly prohnuté (obr. 1), chodidla normální délky, ale s atypickým nasedáním v kotníku, ne však equinovarovním. Dále bylo přítomné prohnutí bérců a větší vzdálenost mezi tibii a fibulou (obr. 2). Profil hlavy byl atypický s naznačeným zanořeným kořenem nosu (obr. 3). Obvod hrudníku byl taktéž pod 5 %, rovina hrudníku a břicha přerušovaná – imprese (obr. 4). Dále již plod nevykazoval další závažné vrozené vady nebo patologické znaky. Bylo vysloveno podezření na kostní dysplazii. Pár podstoupil opakovanou genetickou konzultaci. Byla indikována invazivní prenatalní

diagnostika – aminocentéza – k vyšetření nejčastějších aneuploidií (trizomie chromozomu 21, 13 a 18) a zjištění pohlaví plodu pomocí metody kvantitativní fluorescenční polymerázové řetězové reakce (QF-PCR), vyšetření chromozomálního profilu metodou microarray a vyšetření tria (plod a oba rodiče) metodou klinický exom se zaměřením na geny asociované se skeletální dysplazií. Pár byl poučen o závažnosti nálezu vč. možnosti ukončení gravidity z genetické indikace, ale zatím si přáli v graviditě dále pokračovat. Po týdnu, tedy v 21+6 g.t., provádíme další kontrolní UZ vyšetření plodu, kde pozorujeme výraznou progresi předchozího nálezu. Dlouhé kosti plodu byly téměř beze změn v délce (tab. 1). Femury byly prohnuté. Atypický úhel v kotníku a výrazný rozestup tibie a fibuly byly stále přítomny. Bylo patrné výrazné zmenšení hrudníku. Kardiothorakální index byl patologický. Hrudník byl úzký, profil hrudníku atypický. Rozdíl v obvodu hrudníku a břicha se prohloubil. Hlava plodu byla větší, abnormálního tvaru, dominovalo výrazné vyklenutí čela. Profil obličeje byl plochý a byl patrný hypertelorismus. Mozek normálního vzhledu, ale rozměr mozečku byl na spodní hranici normy. Vyšetření microarray prokazovalo nor-



Obr. 4. Imprese přechodu hrudník/břicho.
Fig. 4. Imprint of the chest/abdomen transition.

mální profil plodu, výsledek klinického exomu nebyl toho času ještě k dispozici. Na základě výrazné progresse patologického UZ nálezu se pár po domluvě s genetikem rozhodl pro ukončení těhotenství z vážných zdravotních/genetických důvodů v souladu se zákonem o uměleém přerušování těhotenství. Potracený plod vykazoval typické známky thanatoforické dysplazie. Byla provedena pitva, která potvrdila výše uvedené UZ nálezy. Dále byl zhotoven RTG snímek plodu (obr. 5) s typickým postižením skeletu pro thanatoforickou dysplazii.

Po dokončení vyšetření klinického exomu byla u plodu prokázána v heterozygotní formě missense varianta c.746C>G (p.Ser249Cys, rs121913483, NM_000142.5) v exonu 7 genu *FGFR3* (obr. 6), která je jednou z běžných variant tohoto genu popsanych v souvislosti s thanatoforickou dysplazií typu 1 (TD1; De Biasio 2000, Jung 2017, Rousseau 1996, Tavormina 1995). V databázi ClinVar je uvedena jako patogenní (Variation ID: 16339) a v databázích běžné populace (1000 Genomes Project, Exome Variant Server a Genome Aggregation Database) se nevyskytuje, což naznačuje, že se nejedná o běžný polymorfismus. Funkční studie variantního proteinu prokazují

stabilní dimerizaci a konstitutivní aktivaci v nepřítomnosti ligandu (Del Piccolo 2015, Tomlinson 2007). Na základě dostupných informací je tato varianta považována za patogenní. Varianta vznikla u plodu tzv. *de novo*, tj. nebyla prokázána u rodičů. Tento výsledek v souladu s UZ vyšetřením i následnou pitvou plodu potvrdil diagnózu thanatoforické dysplazie s mutací receptoru pro fibroblastový růstový faktor 3. Riziko pro další graviditu partnerů bylo vyhodnoceno jako nízké (okolo 1 %) z důvodu možné germinální mozaiky a pro další graviditu byla nabídnuta léčba metodu *in vitro* fertilizací (IVF) s preimplantačním genetickým vyšetřením embryí (PGT-M) nebo prenatalní diagnostika po spontánní koncepci.

Diskuze

Kostní dysplazie jsou širokou heterogenní skupinou onemocnění zahrnující přes 400 onemocnění [11], které mají podobné sonografické znaky. Incidence kostních dysplazií dosahuje 1 na 4 000 porodů. Vzhledem k tomu, že thanatoforická dysplazie je letální onemocnění, je její diagnostika důležitá nejen pro další postup v graviditě, ale i pro budoucí koncepci páru. Do diferenciální diagnostiky podobného UZ nálezu řadíme



Obr. 5. RTG plodu s typickým postižením skeletu (obr. laskavě poskytl MUDr. Jan Matěcha, FN Bulovka).

Fig. 5. X-ray of a fetus with typical skeletal damage (image kindly provided by Jan Matěcha, MD, UH Bulovka).

Tab. 1. Progrese růstu dlouhých kostí ve vztahu k gestačnímu stáří.

Tab. 1. Progression of long bone growth in relation to gestational age.

kost(mm)/g.h.	20+6	21+6
femur	21,5	21,5
humerus	21,4	21,5
tibie	14,8	16,2
fibula	14,2	14,9
radius	17	17,2
ulna	16,6	17,8

achondroplazii, achondrogenezi, campomelickou dysplazií, osteogenesis imperfecta, hypofosfatemii, Jarcho-Levin syndrom a další. Základem pro diagnózu je správné vyšetření sonografistou, na jehož základě poté genetik může indikovat cílené genetické vyšetření. Vzhledem k tomu, že jsou kostní dysplazie ve-

lice širokou skupinou, je výhodou využití klinického exomu. Výsledek vyšetření vyžaduje dodání přesného a podrobného popisu fenotypu plodu pomocí zobrazovacích metod (UZ, ECHO, MR) a pitvy plodu pomocí standardizovaných HPO terms a rozboru osobní a rodinné anamnézy ke stanovení předpokládaného typu dědičnosti. Díky tomuto vyšetření se výrazně rozšiřuje spektrum chorob, které jsme schopni prenatalně diagnostikovat, a to vč. velmi vzácných onemocnění. Naše práce podporuje dříve vyslovenou hypotézu, že klinický exom je důležitou součástí prenatalních genetických vyšetření a vhodnou metodou volby právě v diagnostice skeletálních dysplazií [12–14].

Závěr

Na našem případě ukazujeme význam kvalitního UZ vyšetření podrobné morfologie plodu ve II. trimestru, který je stále hlavní doménou pro UZ diagnostiku kostních dysplazií. Diferenciální diagnóza této skupiny je velice široká. Díky novým možnostem molekulárně genetického vyšetření vč. vyšetření klinického exomu jsme pak schopni stanovit včas správnou diagnózu. Definitivní rozhodnutí je vždy na klientech – páru, avšak tato informace může být rozhodující pro volbu vhodné strategie dalšího postupu v dané graviditě, vč. rozhodnutí o event. umělém přerušování těhotenství (UPT), stanovení rizika

opakování pro další graviditu a zajištění vhodné prevence pomocí PGT-M nebo prenatalní diagnostiky. Pro správnou interpretaci genetického vyšetření a stanovení diagnózy je důležitá především vzájemná spolupráce všech specialistů – sonografisty, genetika a pracovníka genetické laboratoře.

Literatura

1. Maroteux P, Lamy M, Rober JM. Le Nanisme thanatophore. *Prese Med* 1967; 75(49): 2519–2524.
2. Barbosa-Buck CO, Orioli IM, Dutra MG et al. Clinical epidemiology of skeletal dysplasias in South America. *Am J Med Genet A* 2012; 158A(5): 1038–1045. doi: 10.1002/ajmg.a.35246.
3. MacDonald IM, Hunter AG, MacLeod PM et al. Growth and development in thanatophoric dysplasia. *Am J Med Genet* 1989; 33(4): 608–612. doi: 10.1002/ajmg.1320330420.
4. Tonoki H. A boy with thanatophoric dysplasia surviving 212 days. *Clin.Genet* 1987; 32(6): 415–416. doi: 10.1111/j.1399-0004.1987.tb03161.x.
5. Hevner RF. The cerebral cortex malformation in thanatophoric dysplasia: neuropathology and pathogenesis. *Acta Neuropathol* 2005; 110(3): 208–221. doi: 10.1007/s00401-005-1059-8.
6. Tavormina PL, Shiang R, Thompson LM et al. Thanatophoric dysplasia (types I and II) caused by distinct mutations in fibroblast growth factor receptor 3. *Nat Genet* 1995; 9(3): 321–328. doi: 10.1038/ng0395-321.
7. Passos-Bueno MR, Wilcox WR, Jabs EW et al. Clinical spectrum of fibroblast growth factor receptor mutations. *Hum Mutat* 1999; 14(2): 115–125. doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(1999)14:2<115::AID-HUMU3>3.0.CO;2-2.
8. Sawai H, Komori S, Ida A et al. Prenatal diagnosis of thanatophoric dysplasia by mutational analysis of the fibroblast growth factor recep-

tor 3 gene and a proposed correction of previously published PCR results. *Prenat Diagn* 1999; 19(1): 21–24. doi: 10.1002/(sici)1097-0223(199901)19:1<21::aid-pd457>3.0.co;2-5.

9. Horton WA, Hood OJ, Machado MA et al. Abnormal ossification in thanatophoric dysplasia. *Bone* 1988; 9(1): 53–61. doi: 10.1016/8756-3282(88)90027-0.

10. the Human Phenotype Ontology terms. Online [2023]. Available from: <https://hpo.jax.org/app/>.

11. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. *Am J Med Genet A* 2019; 179(12): 2393–2419. doi: 10.1002/ajmg.a.61366.

12. Tang H, Zhang Q, Xiang J et al. Whole exome sequencing aids the diagnosis of fetal skeletal dysplasia. *Front Genet* 2021; 12: 599863. doi: 10.3389/fgene.2021.599863.

13. Cao J, Chen A, Tian L et al. Application of whole exome sequencing in fetal cases with skeletal abnormalities. *Heliyon* 2022; 8(7): e09819. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09819.

14. Peng Y, Yang S, Huang X et al. Whole exome sequencing analysis in fetal skeletal dysplasia detected by ultrasonography: an analysis of 38 cases. *Front Genet* 2021; 12: 728544. doi: 10.3389/fgene.2021.728544.

ORCID autorů

A. Šinská 0000-0001-5584-0398

H. Heřman 0000-0001-5732-3159

Doručeno/Submitted: 24. 4. 2023

Přijato/Accepted: 11. 5. 2023

*MUDr. Michal Holub
Centrum fetální medicíny
a lékařské genetiky, GENNET
Kostelní 9
170 00 Praha 7
holubmichal89@gmail.com*

Publikační etika: Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

Publication ethics: The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE uniform requirements for biomedical papers.

Konflikt zájmů: Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie/práce nemají žádný konflikt zájmů.

Conflict of interests: The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning the drugs, products or services used in the study.

Obr. 6. dostupný na www.cs-gynekologie.cz.