

“
Największą satysfakcję odczuwamy właśnie wtedy, gdy dajemy innym coś z siebie, gdy za cel stawiamy sobie poprawienie warunków życia innych ludzi, gdy przyłączamy się do jakiejś większej sprawy i staramy się wywrzeć pozytywny wpływ na otaczający świat.
”

– Nick Vujicic

Opracowanie redakcyjne, skład oraz opracowanie graficzne:

Jesteśmy Pod Ścianą

Źródło grafik: Canva Creative Studio, Adobe Stock

Copyright © Jesteśmy Pod Ścianą 2023

Niniejsza broszura zawiera treści wyłącznie informacyjne,
nie stanowi porady medycznej.



SPIIS TREŚCI

Jesteśmy Pod Ścianą	4
Badanie WES — co należy o nim wiedzieć	12
Korzyści badania WES	21
Badanie WES — zestaw pytań pomocniczych	26
WES vs WES TRIO — korzyści WES TRIO	30
WES vs WGS	33
Badanie WES — pomoc grupy JPŚ	37

Jesteśmy Pod Ścianą

Facebookowa grupa wsparcia „Jesteśmy Pod Ścianą”

Grupa Jesteśmy Pod Ścianą została założona w 2020 roku przez Marcina Basińskiego, ojca Oliwierka, chłopca cierpiącego na ultraradką genetyczną chorobę metaboliczną – HIBCH.

To choroba synka była impulsem do powołania grupy wsparcia, która powiększa się z dnia na dzień w niezwykłym tempie i pozwala pomóc tysiącom osób. Grupa prowadzona jest przez Marcina Basińskiego oraz Marcina Maszewskiego. To dzięki ich działaniom udało się zdiagnozować setki dzieci, czasami po kilku, a nawet kilkunastu latach poszukiwania diagnozy!

Kliknij w poniższe zdjęcie i poznaj historię Oliwierka, cierpiącego na ultraradką chorobę – HIBCH



Grupa stała się profesjonalnym narzędziem wsparcia. Naszą działalnością chcemy podnosić poziom diagnostyki genetycznej w Polsce, uświadomić rodziców o znaczeniu badań genetycznych i skrócić im tym samym drogę diagnostyczną. Zdobyliśmy wiedzę, dzięki której umiemy poprowadzić pacjenta przez cały proces diagnostyczny i pomóc w poszukiwaniu terapii w Polsce i zagranicą.

Jeśli jeszcze nie jesteś członkiem naszej grupy – zapraszamy! Kliknij w logo i dołącz do nas! Jest już nas ok. 20 000!



część 2.

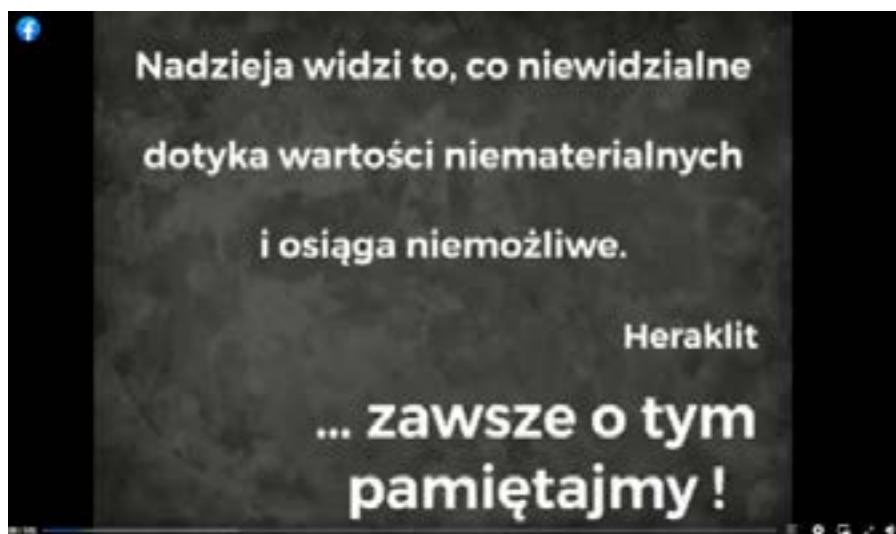


Kliknij w poniższe zdjęcia
i zobacz filmy Marcina
Basińskiego przedstawiające
codzienność dzieci cierpiących na
choroby rzadkie oraz heroiczną
walkę ich rodziców

część 1.



część 3.



Misją grupy Jesteśmy Pod Ścianą jest walka o prawidłową diagnozę przyczynową. Właściwa i szybko postawiona diagnoza pozwala przygotować się do walki z chorobą. Pozwala dobrać odpowiednią terapię, a także odpowiednią dietę oraz suplementy. Czasami pozwala otworzyć drogę do terapii genowej lub enzymatycznej. Pozwala wygrać zdrowie i życie. Skąd to wiemy? Bo przeszliśmy tę drogę! Też staliśmy pod ścianą! O doświadczeniach Oliwierka (synka założycela grupy Jesteśmy Pod Ścianą) i jego rodziców, a tak naprawdę doświadczeniach większości rodziców i dzieci cierpiących na rzadkie schorzenia, przeczytasz w wywiadzie z Marcinem Basińskim. Wywiad ten ukazał się na łamach Interii 28 lutego 2021 roku, w Światowy Dzień Chorób Rzadkich.

**KLIKNIJ I PRZECZYTAJ CAŁY
WYWIAD NA PORTALU INTERIA**

WYWIAD Z MARCINEM BASIŃSKIM
"JESTEŚMY POD ŚCIANĄ.
RZECZYWISTOŚĆ OSÓB CIERPIĄCYCH
NA CHOROBY RZADKIE".
POLECAMY LEKTURĘ CAŁOŚCI!

FRAGMENT WYWIADU NA KOLEJNEJ STRONIE





(...) w Polsce funkcjonuje archaiczne podejście zarówno do diagnozowania, jak i samych chorób rzadkich. Właśnie takie postępowanie było i jest przez nas ostro krytykowane. Choroby rzadkie są wrzucane do jednego worka. A tego właśnie nie wolno robić, w chorobach rzadkich ważne jest bardzo zróżnicowane podejście terapeutyczne. Objawy neurologiczne są takie same, czyli np. takie same napady toniczne będziemy mieć w dwóch różnych chorobach. W Polsce się to odbywa w ten sposób, że niemal wszystkie dzieci na te same objawy otrzymają schematyczne i standardowe terapie, które mogą być bardzo niekorzystne dla ich zdrowia, a czasami wręcz katastrofalne.

Wyjaśnię to na przykładzie mojego synka – zanim otrzymaliśmy diagnozę, Oliwierek był leczony przez 3 miesiące lekami przeciw padaczkowymi. Po otrzymaniu diagnozy okazało się, że leki te były dla niego bardzo toksyczne, to one uszkodziły jego system nerwowy bardziej niż cokolwiek do tej pory. Zaledwie przez 3 miesiące. Trzeba sobie teraz wyobrazić, że takie objawy, jak miał Oliwier, miały i mają również dzieci z innymi chorobami, a one także otrzymują taki sam zestaw leczenia. W Polsce z dziećmi chorymi na chorobę rzadką się postępuje tak, jakby te dzieci miały jedną chorobę rzadką i była dostępna tylko jedna terapia. A tak naprawdę, ile jest chorób rzadkich - tyle jest postępowań. System opieki zdrowotnej w kontekście chorób rzadkich wymaga całkowitej rewolucji.

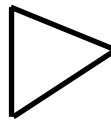


Działania grupy Jesteśmy Pod Ścianą

badanie peroksydazy glutationowej

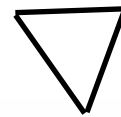


- uczestnicy badania – ok. 70
- dzieci grupy Jesteśmy Pod Ścianą



- placówka naukowo-badawcza
- zajmująca się problematyką zdrowia
- publicznego, środowiskowego oraz
- szeroko rozumianą medycyną pracy

Dzięki zaprzyjaźnionej placówce – Instytutowi Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi – grupa Jesteśmy Pod Ścianą zorganizowała kilkakrotnie darmowe badanie peroksydazy glutationowej dla kilkudziesięciu członków grupy. Jest to bardzo ważne badanie, które mówiąc najprościej – jest w stanie pokazać, czy nasz organizm ma problem z usuwaniem toksyn. Stres oksydacyjny może doprowadzić do uszkodzenia systemu nerwowego, wątroby czy nerek. Biorąc pod uwagę zakres rzadkich schorzeń i mutacji badanych dzieci z grupy JPŚ, istnieje ogromna szansa, że uzyskane w niektórych przypadkach wyniki doprowadzą do pojawienia się publikacji naukowych na ten temat.



konsultacje ze specjalistami

Grupowicze mają okazję skorzystać z szybkich (tele)konsultacji z najlepszymi polskimi specjalistami m.in. z zakresu genetyki klinicznej, pediatrii, pediatrii metabolicznej, immunologii, dietetyki.



informacje o suplementacji

Zdobyliśmy dużą wiedzę na temat chorób rzadkich, poznaliśmy wiele artykułów na temat chorób neurodegeneracyjnych i wiemy, jak dużą rolę odgrywają odpowiednio dobrane do danego schorzenia i objawów suplementy.

W wielu schorzeniach, zwłaszcza metabolicznych i mitochondrialnych, stanowią pierwszą linię walki z chorobą. Poszukujemy najbardziej skutecznych preparatów, często zdobywając wiedzę u samego producenta. Propagujemy wiedzę na temat dobrze poznanych przez nas suplementów.



koncerty/akcje charytatywne

Robimy to, co umiemy i lubimy najlepiej – czyli pomagamy innym. Staramy się działać w wielu strefach, dlatego nie mogło nas zabraknąć przy organizowaniu koncertów i akcji charytatywnych. Za nami kilka wydarzeń, dzięki którym udało się zebrać fundusze dla podopiecznych różnych fundacji. Dodatkowo dla naszych grupowiczów zorganizowaliśmy akcję Serce na zakrętki, bardzo aktywnie włączyliśmy się w rodzicielską akcję pomocy na rzecz Oddziału Pediatrii i Neurologii Dziecięcej w szpitalu Jana Pawła II w Krakowie. Staramy się włączać i samodzielnie organizować akcje społeczne.



projekt TECZKA

Projekt Teczka przygotowaliśmy specjalnie dla naszych grupowiczów, małych pacjentów ze stwierdzonymi mutacjami genetycznymi. Osoby zaangażowane w projekt pracują nad poszukiwaniami badań i opracowań naukowych z całego świata, a także nad opracowaniem ich językowo i edytorsko. Zebrany materiał zawiera najważniejsze i najnowsze informacje na temat danej mutacji i stanowi kompilacyjne źródło dla lekarzy.



Badanie WES

Badanie WES

– co należy o nim wiedzieć

Badanie WES (ang. Whole Exome Sequencing) polega na sekwencjonowaniu całego egzomu człowieka, czyli wszystkich znanych na ten moment genów – jest ich ok. 23 000. Badanie to jest oparte na technologii NGS (Sekwencjonowanie Nowej Generacji, ang. Next Generation Sequencing) i obejmuje sprawdzenie tylko sekwencji kodujących, czyli eksonów, i porównanie jej z sekwencją wzorcową. Badanie umożliwia zdiagnozowanie niemal wszystkich chorób genetycznych o znanym uwarunkowaniu.

Za pomocą badania WES można wykryć zapisane w genach choroby metaboliczne, pierwotne niedobory odporności i wiele innych uwarunkowanych genetycznie zaburzeń, odpowiedzialnych za wywołanie niepokojących objawów.

Badanie WES jest niezastąpione u pacjentów, u których występuje wiele niespecyficznych, zróżnicowanych objawów. Na ich podstawie trudno jest wyznaczyć lekarzom konkretną ścieżkę diagnostyczną, zazwyczaj trwa ona bardzo długo, nawet latami, a pacjenci badają pojedyncze objawy u lekarzy określonych specjalizacji, którzy często nie łączą objawów z różnych układów w trop choroby genetycznej. **Badanie WES to najszybszy sposób na znalezienie przyczyny choroby, co znacznie przyspiesza przejście przez tzw. odyseję diagnostyczną.** Metody te stają się również stosunkowo coraz tańsze.



Kiedy wykonać badanie WES?

Badanie WES pozwala szybko i skutecznie wykryć choroby o podłożu genetycznym, których objawy są często trudne do zdiagnozowania. Badanie to należy rozważyć zwłaszcza u pacjentów, u których występują niepokojące objawy i problemy zdrowotne, między innymi:

- ➔ cechy dysmorficzne (zmiany w wyglądzie)
- ➔ objawy ze spektrum autyzmu
- ➔ padaczka
- ➔ zaburzenia rozwoju: opóźnienie, zahamowanie lub regresja rozwoju psychoruchowego
- ➔ zaburzenia odporności
- ➔ niepełnosprawność intelektualna
- ➔ mikrocefalia, makrocefalia
- ➔ wady rozwojowe mózgu i innych narządów
- ➔ nieprawidłowe napięcie mięśniowe
- ➔ dystrofie mięśniowe (zaniki mięśni)
- ➔ schorzenia ortopedyczne
- ➔ objawy metaboliczne
- ➔ objawy układu kostnego



Należy pamiętać, że choroby genetyczne to często choroby wieloukładowe, dlatego niepokojące objawy mogą dotyczyć każdego układu lub narządu.

Choroby metaboliczne

Badanie WES zaleca się wykonać również w sytuacji podejrzenia choroby metabolicznej. Wrodzone wady metabolizmu są złożonymi zaburzeniami o ogromnej zmienności objawów klinicznych. Szybkie wykrycie tych zaburzeń pozwala pacjentowi na wdrożenie odpowiedniego leczenia, zatrzymanie bądź spowolnienie choroby i zwiększa szanse na prawidłowy rozwój dziecka.

...jak działa Twój metabolizm?

Metabolizm to proces chemiczny – organizm używa go do przekształcenia spożywanej żywności w paliwo, które utrzymuje Cię przy życiu.

Spożywane pokarmy składają się z białek, węglowodanów i tłuszczów. Substancje te są rozkładane przez enzymy w układzie pokarmowym, a następnie przenoszone do komórek, gdzie mogą być wykorzystane jako paliwo. Twoje ciało albo natychmiast używa tych substancji, albo przechowuje je w wątrobie, tkance tłuszczowej i mięśniach do późniejszego wykorzystania.

...co to jest zaburzenie metaboliczne?

Zaburzenie metaboliczne występuje, gdy proces metabolizmu zawodzi i powoduje, że organizm ma za dużo lub za

CZY WIESZ.....



mało niezbędnych substancji potrzebnych do zachowania zdrowia. Organizm musi posiadać aminokwasy i wiele rodzajów białek, aby móc wykonywać wszystkie swoje funkcje. Na przykład mózg potrzebuje wapnia, potasu i sodu do generowania impulsów elektrycznych oraz lipidów (tłuszczów i olejów) do utrzymania zdrowego układu nerwowego.

Zaburzenia metaboliczne mogą przybierać różne formy. Są to między innymi:

- brakujący enzym lub witamina niezbędna do ważnej reakcji chemicznej
- nieprawidłowe reakcje chemiczne, które utrudniają procesy metaboliczne
- choroba wątroby, trzustki, gruczołów dokrewnych lub innych narządów biorących udział w metabolizmie
- niedobory żywieniowe.

...co powoduje zaburzenia metaboliczne?

Istnieją setki genetycznych zaburzeń metabolicznych spowodowanych mutacjami pojedynczych genów. Te mutacje mogą być przekazywane z pokolenia na pokolenie rodzin.

Zaburzenia metaboliczne są bardzo złożone i rzadkie. Mimo to są przedmiotem ciągłych badań, które pomagają naukowcom lepiej zrozumieć przyczyny częstszych problemów, takich jak nietolerancja laktozy, sacharozy i glukozy oraz nadmiar niektórych białek.



Badanie WES bada największy obszar związany z chorobami metabolicznymi.

Z rozmów z najlepszymi specjalistami wiemy, że szukanie chorób metabolicznych drogą badań biochemicznych, a nie genetycznych, często oznacza szukanie przyczyny choroby niczym igły w stogu siana.

Autorzy artykułu *Effect of Whole Exome Sequencing in Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism and Neurogenetic Disorders (Wpływ sekwencjonowania całego egzomu na diagnostykę wrodzonych wad metabolizmu i zaburzeń neurogenetycznych)* z 2018 roku podali w wynikach podsumowujących ich badania, że

"WES to skuteczna technologia o niezwykłym wpływie w diagnostyce chorób metabolicznych i neurologicznych, zwłaszcza w przypadkach złożonych. Skuteczność diagnostyczna WES dla tych schorzeń jest bardzo zróżnicowana, wahając się od 16% do 68%, ze wzrostem w ostatnich latach. WES może dostarczyć świeżych cennych informacji o nowej chorobie, nowych wariantach i fenotypach. Dokładna analiza i interpretacja danych uzyskanych metodą WES oraz dokładna ocena korelacji między obrazem klinicznym a wynikami WES są niezbędne do postawienia prawidłowego rozpoznania".



kliknij w grafikę obok i zajrzyj do całego artykułu M. Shakiba, M. Keramatipour, *Effect of Whole Exome Sequencing in Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism and Neurogenetic Disorders*, *Iran J Child Neurol*. 2018 Winter; 12(1): 7–15.

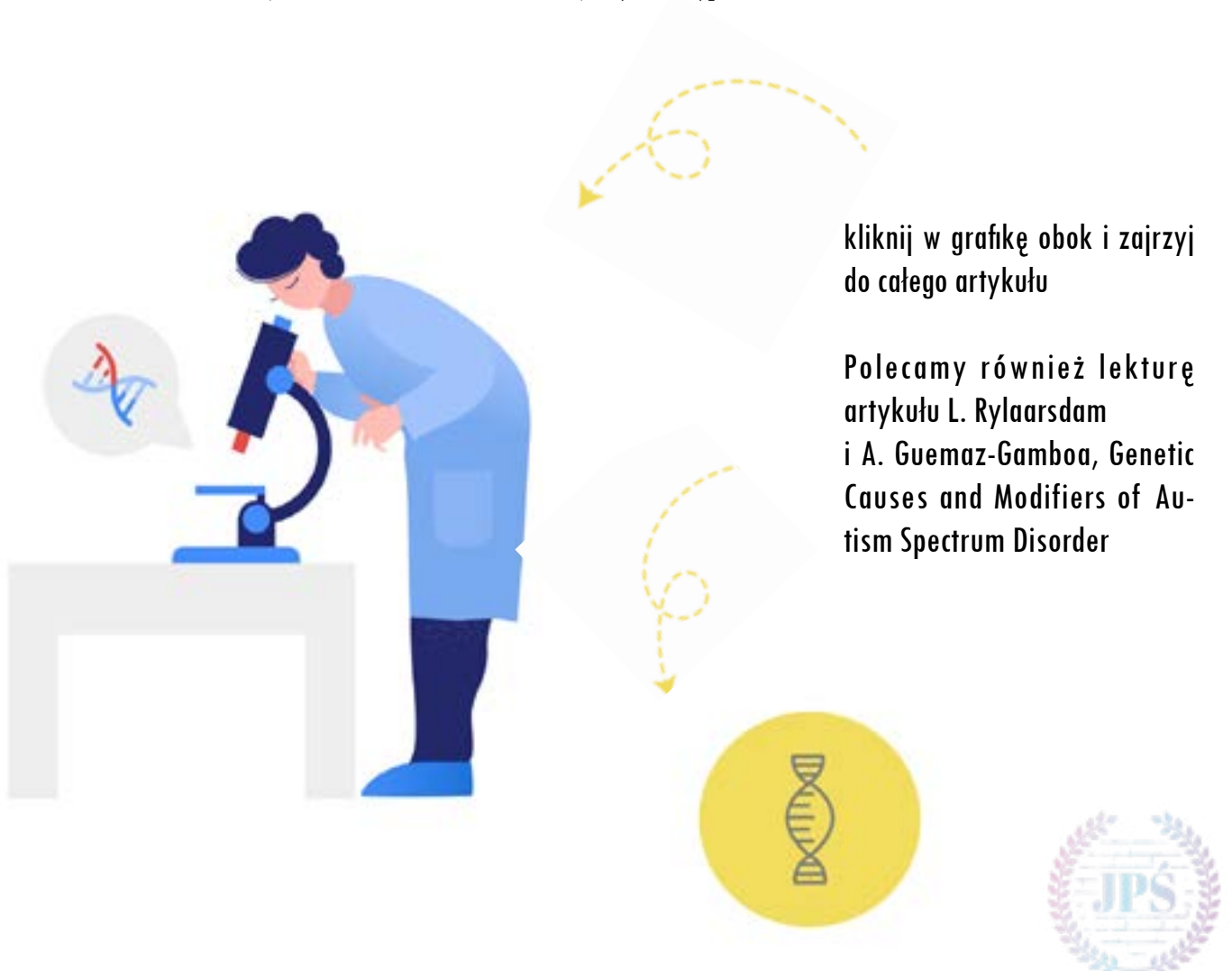
Choroby metaboliczne są chorobami genetycznymi, więc do ich diagnozowania służą badania genetyczne. Najwięcej tych chorób można znaleźć w obszarze badania WES.



Autyzm a genetyka

Zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASDs, ang. autism spectrum disorders) są jedną z najczęściej występujących grup zaburzeń neurorozwojowych i dotyczą około 0,6-1% ogólnej populacji dzieci.

Autorzy artykułu z 2020 roku *Autism spectrum disorder* w kontekście autyzmu podkreślają szczególnie duży udział genetyczny, z szacowaną dziedzicznością od ~40% do 90%. Ponadto jedna z analiz wykazała, że autyzm należy do najbardziej dziedzicznych powszechnych schorzeń. Ponad 100 genów i regionów genomowych zostało obecnie pewnie powiązanych z autyzmem, głównie w oparciu o badania heterozygotycznych, germinalnych mutacji de novo [Lord, C., Brugha, T.S., Charman, T. et al., *Autism spectrum disorder*, *Nat Rev Dis Primers* 6, 5 (2020)].



Padaczka a genetyka

Według Światowej Organizacji Zdrowia mianem padaczki określa się przewlekłe zaburzenia czynności mózgu o różnej etiologii (źródle pochodzenia), cechujące się nawracającymi napadami.

Naukowcy powiązali z padaczką już ponad tysiąc genów i wciąż odkrywane są kolejne. Już w 2016 roku autorzy artykułu "Epilepsy-associated genes" podsumowali 977 genów związanych z padaczką i podzielili je na 4 kategorie:

- ➔ 84 geny padaczki powodujące padaczkę lub zespoły, których głównym objawem jest padaczka
- ➔ 73 geny związane z rozwojem neurologicznym, są to geny związane z poważnymi wadami rozwojowymi mózgu i epilepsją
- ➔ 536 genów związanych z padaczką, są to geny związane z poważnymi nieprawidłowościami fizycznymi lub innymi, którym towarzyszą napady padaczkowe
- ➔ 284 potencjalne geny związane z padaczką, czyli geny wymagające dalszej weryfikacji.



kliknij w grafikę obok i zajrzyj do całego artykułu



Należy pamiętać, że w padaczce jest niezwykle ważne szukanie przyczyny choroby. Jest wiele chorób, np. metabolicznych, których objawem są napady padaczkowe lub drgawki, których nie leczy się standardowymi lekami przeciwpadaczkowymi, a jedynie specjalistyczną dietą i suplementacją. Jest tak m.in. w padaczce zależnej od pirydoksyny czy w deficycie HIBCH.

Aby wiedzieć, jak leczyć napady padaczkowe, pacjent musi być zdiagnozowany.












Postęp w badaniach genetycznych i diagnostyce padaczki zmieniają podejście terapeutyczne, pozwalając na dopasowanie leczenia w zależności od określonego wariantu mutacji. W niektórych przypadkach diagnoza genetyczna pozwala pomóc w wyborze leku przeciwpadaczkowego, ponieważ znane są już powiązania między niektórymi lekami a genetycznymi zaburzeniami padaczkowymi. Istnieją dowody na to, że niektóre leki pomagają lepiej kontrolować napady w określonych schorzeniach, a także na to, że niektóre leki mogą powodować działania niepożądane, jak np. kwas walproinowy w określonych chorobach mitochondrialnych.



Korzyści badania WES

Korzyści badania WES

-  możliwość wykonania możliwie najszerszej diagnostyki różnicowej w krótkim czasie – wiele chorób o podłożu genetycznym ma podobne objawy, jeśli na ich podstawie lekarze podejrzewają określoną chorobę i wykonują tylko badania w kierunku tego podejrzenia (np. sprawdzenie tylko kilku genów związanych z określonym objawem – tzw. badanie celowane, panel genów), a choroba ta zostanie wykluczona, oznacza to, że trzeba będzie wykonać kolejne badania i kontynuować diagnostykę do skutku. A to oznacza, że pacjenci tracą cenny czas, aby poznać diagnozę i wprowadzić leczenie, ale także docelowo poniosą większe koszty
-  oszczędność czasu
-  szansa na zmniejszenie kosztów diagnostyki
-  skrócenie odysei diagnostycznej
-  szybkie otrzymanie diagnozy pozwala wdrożyć kierunkowe leczenie, niezwykle kluczowe zwłaszcza w chorobach metabolicznych
-  otrzymana diagnoza pozwala poznać historię naturalną choroby, odnaleźć stowarzyszenia, fundacje zrzeszające pacjentów z daną mutacją
-  badanie to można wykonać raz w życiu, otrzymuje się surowe dane, które można wielokrotnie analizować
-  możliwość działań prewencyjnych – wczesne wykrycie choroby pozwala zapobiec jej szkodliwym skutkom
-  diagnoza genetyczna pozwala wziąć udział w badaniach naukowych / klinicznych, które mogą być prowadzone na świecie w związku z określoną mutacją



O co najczęściej pytacie? Kilka pytań i odpowiedzi

Jak przygotować się do badania?

Samo badanie WES nie wymaga żadnych specjalnych przygotowań. Pacjent nie musi być na czczo. Powinien jednak pamiętać o odpowiednim nawodnieniu organizmu, by w trakcie pobierania krwi nie była zbyt gęsta.

Czym się różni WES od badania mikromacierzy?

Mikromacierze, inaczej badanie mikromacierzy aCGH to jedna z metod oceny kariotypu (kariotyp – kompletny zestaw chromosomów komórki somatycznej organizmu). Mikromacierze to badanie chromosomów – wskazuje aberracje chromosomowe – sprawdza strukturę i liczbę chromosomów. Badanie WES natomiast to badanie genów – sprawdza mutacje genów. Geny mieszczą się na chromosomach, może ich być w jednym chromosomie od kilkuset do kilku tysięcy.

Czy potrzebuję skierowanie na badanie WES?

Nie. Jeśli wykonujecie badanie prywatnie, nie są potrzebne ani zgoda lekarza, ani skierowanie na badanie.



Co oznacza określenie “fenotyp”?

Fenotyp ogólnie oznacza zespół wszystkich dostrzegalnych cech organizmu będący wynikiem współdziałania czynników dziedzicznych oraz warunków środowiska [Słownik Języka Polskiego, PWN]. Genotyp to zbiór genów danej osoby, a fenotyp to zespół jego cech – wpływ na fenotyp mają zarówno geny, jak i środowisko. Fenotyp podczas badania WES oznacza opis dziecka pod kątem jego objawów i problemów zdrowotnych. Należy dodać, że informacje te mają duże znaczenia podczas analizy, dlatego trzeba odpowiednio przygotować fenotyp dziecka. Powinno się przeanalizować całą historię choroby dziecka i wpisywać tylko rzeczywiste, potwierdzone przez lekarzy i zaobserwowane przez rodziców objawy.

Z czego wynika “popularność” badania WES?

Badanie WES jest aktualnie najszerszym badaniem diagnostycznym, które pozwala szybko wykryć choroby o podłożu genetycznym, mające często niejasne objawy. Coraz szerzej wykonywana diagnostyka genetyczna – ogromny wkład w to ma grupa Jesteśmy Pod Ścianą – pokazuje, że większość chorób była dotychczas leczona w sposób objawowy, bez poszukiwania przyczyny objawów. Wiele dzieci pozostawało przez wiele lat z diagnozą “mózgowe porażenie dziecięce” lub “padaczka lekooporna”. Dopiero poszerzenie diagnostyki o badania genetyczne pozwoliło wykryć przyczynę i postawić diagnozę. W bardzo wielu przypadków



nie brano pod uwagę, że np. padaczka/drgawki może być jednym z objawów podstawowej choroby – np. rzadkiego schorzenia metabolicznego o podłożu genetycznym. Dziesiątki zdiagnozowanych dzieci z grupy JPŚ miały początkowo podobne, a nawet takie same objawy i były leczone w ten sam sposób. Wyniki badania WES wskazały różną etiologię ich schorzeń i każde z tych schorzeń obejmuje inne określone podejście terapeutyczne, często dietetyczne. Warto tu podkreślić, że 80% chorób rzadkich to choroby genetyczne, natomiast 50% chorób rzadkich dotyczy dzieci. Najlepsze ośrodki zagraniczne rekomendują badanie WES już przy pierwszych niespecyficznych objawach, które mogłyby świadczyć o chorobie genetycznej.

W Polsce badanie to staje się coraz bardziej popularne wśród rodziców, którzy często wiedzę o nim zdobywają od innych rodziców lub na grupach wsparcia. Jest oczywiście duża grupa lekarzy, którzy rekomenują w odpowiednim czasie to badanie, jednak istnieje jeszcze ogromna grupa lekarzy, którzy o nim nie słyszeli lub mimo wiedzy – nie polecają go swoim pacjentom, co często powoduje znaczne wydłużenia czasu poszukiwania diagnozy. Dlatego misją grupy i Fundacji Jesteśmy Pod Ścianą pozostaje propagowanie tej wiedzy w różnych środowiskach, zdobywanie najnowszych i rzetelnych wiadomości z zakresu genetyki oraz współpraca z najlepszymi diagnostycznymi placówkami, a także biotechnologami i naukowcami, którzy poszukają nowych form terapii genowej chorób rzadkich.



Badanie WES

– zestaw pytań pomocniczych

Zestaw pytań pomocniczych, przygotowany przez grupę Jesteśmy Pod Ścianą, który może okazać się pomocny podczas opisywania objawów do badania WES.

Rodzic często ogranicza się do kilku objawów, jednak przy przygotowaniu fenotypu należy szczegółowo przeanalizować całą historię choroby dziecka. W zależności od pojawiania się objawów i przebiegu choroby warto przeanalizować przebieg ciąży oraz wszystkie niepokojące objawy.

Dodatkowe pytania/objawy, na które warto zwrócić uwagę:

-  napady padaczkowe, drgawki
-  paroxysmal tonic upgaze (napadowe toniczne patrzenie w górę)
-  bardzo długie rzęsy
-  nadmierna potliwość (plecy, tył głowy)
-  problemy z termoregulacją (zimne spoczone dłonie)
-  epizody agresji/złości
-  przebarwienia na zębach
-  późno wyrzynające się zęby
-  brak uzębienia
-  problemy z jedzeniem większych struktur pokarmu
-  wymioty (po jedzeniu lub bez powodu)

- ➔ problemy związane z chwytem
- ➔ pływająca gałka oczna (oczopląs), problemy okulistyczne
- ➔ nietolerancje leków, suplementów
- ➔ nietolerancje pokarmowe
- ➔ długie drzemki w dzień
- ➔ choroby w rodzinie
- ➔ hipermobilność stawów
- ➔ przerost kończyn
- ➔ regres po infekcjach, gorączce, szczepieniu, po lekach przeciwpadaczkowych
- ➔ brak odpowiedzi na leczenie
- ➔ problemy z budowaniem poziomu stosowanych leków przeciwpadaczkowych (jaki lek)
- ➔ delikatna, nadmiernie rozciągliwa skóra
- ➔ problemy związane z przyjmowaniem mleka matki bądź zastępczego
- ➔ długi okres trwania kolki niemowlęcej
- ➔ problemy ze ssaniem
- ➔ pogorszenie stanu dziecka po pokarmach, niezależnie w jakiej formie
- ➔ dziwny zapach moczu

- ➔ problemy z koordynacją ruchu, niezborność ruchowa
- ➔ szybkie zmęczenie oraz ogólne problemy energetyczne
- ➔ zaburzony rytm dobowy (płytki sen)
- ➔ wrażenie, że dziecko jest niewyspane mimo przespanej nocy (problem ze snem głębokim)
- ➔ problemy ze słuchem
- ➔ problemy z przybieraniem na wadze
- ➔ regresja rozwoju po okresie pozornej normy rozwojowej
- ➔ zmienny przebieg choroby
- ➔ napady padaczkowe nasilające się na czczo lub po posiłkach wysokobiałkowych
- ➔ nasilenie napadów padaczków związane z lekami przeciwpadaczkowymi (jakie leki)
- ➔ zaburzenia napięcia mięśniowego
- ➔ nadmierna senność
- ➔ trudności w karmieniu

WES vs WES TRIO

– korzyści WES TRIO


W badaniu WES analizowane są wyłącznie geny pacjenta, u którego pojawiły się jakieś niepokojące objawy. Pierwsza część badania to sekwencjonowane wszystkich geny – około 23 000 (sprawdzenie sekwencji kodujących, czyli eksonów). W drugiej części analizie bioinformatycznej zostają poddane symptomy pacjenta – jego fenotyp. Ten etap pozwala wybrać poszczególne geny do szczegółowej analizy – analizuje się tylko ten zestaw genów, który może być przyczyną niepokojących objawów. Etap trzeci – analiza kliniczna – oznacza, że w raporcie umieszcza się jedynie te zmiany w genach, które mogą przyczynić się do powstania objawów. Diagnosta laboratoryjny na podstawie literatury medycznej, baz danych i własnego doświadczenia wybiera te mutacje, które mogą mieć negatywny wpływ na stan zdrowia pacjenta wg aktualnej wiedzy medycznej. Jeśli wskazane mutacje odpowiadają za powstanie choroby (są patogeniczne), to na podstawie raportu z badania lekarz specjalista może postawić właściwą diagnozę. Czasami w przypadku potwierdzenia bądź wykluczenia diagnozy dziecka wykonuje się również dodatkowe badanie u rodziców pacjenta – zazwyczaj metodą Sangera bada się pojedyncze określone geny i sprawdza się sposób dziedziczenia mutacji.

Specjaliści opisujący wyniki testów WES bardzo ostrożnie podchodzą do interpretacji badania, biorąc pod uwagę przede wszystkim objawy, jakie występują u pacjenta. Należy mieć na uwadze pojawiający się problem “pozytywnie fałszywego wyniku”. W raporcie pojawiają się mutacje, które nie odpowiadają za stan kliniczny pacjenta.

Ponadto należy również podkreślić fakt, że badania WES mogą wykryć dodatkowo inne zmiany, które nie wynikały z celu badania, a mogą mieć znaczenie dla pacjenta. Stąd deklaracje pacjentów, czy wyrażają zgodę na raportowanie wszystkich zmian, jakie zostaną zidentyfikowane w badaniu WES.



Korzyści badania WES trio



Podczas badania WES trio geny zostają poddane analizie w inny sposób niż w przypadku pojedynczego badania WES. Wykonuje się sekwencjonowanie materiału genetycznego dziecka i rodziców, a później porównuje się ten materiał ze sobą. Jeśli zostanie wykryta zmiana patogeniczna, to ona zostaje uznana za przyczynę niepokojących symptomów. W przypadku WES trio można ocenić, czy dziecko odziedziczyło mutację w genie po rodzicach, czy powstała ona de novo.

Badanie WES trio pozwala na potwierdzenie statusu genetycznego zidentyfikowanych wariantów bezpośrednio w badaniu WES oraz sprawdzenie potencjalnej roli zidentyfikowanych wariantów/mutacji jako przyczyny choroby. WES trio jest szczególnie przydatne w przypadku chorób o podłożu genetycznym, które mogą być dziedziczone w sposób autosomalny recesywny lub dominujący.



WES vs WGS

WES vs WGS



Za pomocą **sekwencjonowania technologią NGS** można wykonać:

- ➔ sekwencjonowanie wyselekcjonowanych fragmentów genomu, np. tylko sekwencji kodujących (sekwencjonowanie całoeksomowe, ang. WES – Whole Exome Sequencing)
- ➔ tylko sekwencji kodujący genów powiązanych ze znanymi jednostkami chorobowymi (sekwencjonowanie tzw. eksomu klinicznego, ang. CES – Clinical Exome Sequencing)
- ➔ sekwencji kodujących tylko wybranych genów, powiązanych z określoną jednostką chorobową (sekwencjonowanie panelu cełowanego, ang. TGS – Targeted Gene Sequencing)
- ➔ sekwencjonowanie całego genomu (ang. WGS – Whole Genome Sequencing)

Testy oparte na sekwencjonowaniu nowej generacji (NGS) okazały się wysoce skuteczne w diagnozowaniu chorób genetycznych, w szczególności rzadkich chorób jednogenowych. NGS w znaczący sposób pomogło zwiększyć wydajność diagnostyczną testów genetycznych i zwiększyć liczbę zgłoszonych genów powodujących choroby.

Ta wysokowydajna technologia pozwala na sekwencjonowanie miliardów fragmentów DNA z dużą precyzją w jednym eksperymencie i obecnie możliwa jest analiza dużych paneli genów (>100 genów), całych egzomów (WES), a nawet całych genomów (WGS).



SEKWENCJONOWANIE CAŁEGO GENOMU – WGS

Sekwencjonowanie całego genomu określa kolejność wszystkich nukleotydów w DNA danej osoby i może odkryć zmienność dowolnej części genomu ludzkiego, w tym regiony kodujące, niekodujące i mitochondrialne DNA (mtDNA). W niektórych przypadkach WGS jest lepszym rozwiązaniem, ponieważ zmiany DNA poza regionami kodującymi białka mogą wpływać na aktywność genów i produkcję białek, potencjalnie prowadząc do zaburzeń genetycznych. Jednak WGS wymaga większej liczby odczynników do sekwencjonowania i generuje bardzo duże zbiory danych, które wymagają zaawansowanej wiedzy bioinformatycznej do odszyfrowania, co zwiększa zarówno koszt, jak i czas wymagany do analizy.

SEKWENCJONOWANIE CAŁEGO EGZOMU – WES

Sekwencjonowanie całego egzomu skupia się na genomowych regionach kodujących białka (egzonach). **Chociaż WES wymaga dodatkowych odczynników (sond) i kilku dodatkowych etapów (hybrydyzacja), jest to opłacalna, szeroko stosowana metoda NGS,** która wymaga mniej odczynników do sekwencjonowania i zajmuje mniej czasu na wykonanie analizy bioinformatycznej w porównaniu z WGS. **Chociaż ludzki egzom stanowi tylko 1-5% genomu, zawiera około 85% znanych wariantów związanych z chorobą.**



W związku z tym naukowcy wykonujący WES osiągają kompleksowe pokrycie wariantów kodujących, takich jak warianty pojedynczego nukleotydu (SNV) i insercje/delecje (indele). Pomimo dłuższego przygotowania próbki ze względu na dodatkowy etap wzbogacania docelowego naukowcy odnoszą korzyści z szybszego sekwencjonowania i analizy danych w porównaniu z WGS. WES zapewnia większą głębokość sekwencjonowania naukowcom zainteresowanym identyfikacją wariantów genetycznych do wielu zastosowań, w tym genetyki populacyjnej, badań chorób genetycznych i badań nad rakiem.



WES jest niezwykle cenny w procesie diagnostycznym, bo choć wychwytuje tylko ok. 2% całego genomu, to szacuje się, że występuje tu 85% wariantów powodujących chorobę genetyczną.

WGS – czyli sekwencjonowanie całego genomu – to kolejne badanie w sytuacji, gdy badanie WES, zwłaszcza WES TRIO – nie wskaże zmiany odpowiedzialnych za objawy pacjenta, a mamy do czynienia z pogłębiającymi się objawami (postępującymi) oraz podejrzeniem choroby metabolicznej.

W wielu badaniach odnotowano jedynie niewielką poprawę wskaźników diagnostycznych przy stosowaniu WGS zamiast WES.



Badanie WES

pomoc grupy JPŚ

Poznaliśmy kilka placówek wykonujących badanie WES. Dla siebie i dla Was wybraliśmy do współpracy najlepszą placówkę oferującą ten typ badania – jest nią **Warszawski Uniwersytet Medyczny (WUM)** i zespół specjalistów pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Rafała Płoskiego. Doświadczenia nasze oraz wielu grupowiczów Jesteśmy Pod Ścianą potwierdzają, że badanie wykonane w tej placówce gwarantuje wysoką jakość oraz dokładną i rzetelną analizę.

Jako rodzice, którzy sami stali pod ścianą, staramy się okazać innym pełne wsparcie w diagnozie i walce z chorobami rzadkimi. Pomagamy, dzieląc się naszą wiedzą i doświadczeniem. Złap nas za rękę... Będziemy z Tobą przez cały trudny proces poszukiwania diagnozy, a także i później!

badanie WES: WUM & JPŚ

01

- rozpoczęcie procedury – JPŚ
- - pomoc w przygotowaniach do badania, wypełnieniu formularzy, przygotowaniu fenotypu

02

badanie – WUM



pomoc JPŚ po diagnozie

03



- po otrzymaniu diagnozy możesz
- liczyć na naszą pomoc w szybkim
- dostaniu się do najlepszych lekarzy
- różnych specjalizacji

04



- po otrzymaniu diagnozy możesz liczyć
- na naszą pomoc w wyszukiwaniu
- kluczowych publikacji związanych
- z wykrytym wariantem oraz na wiedzę
- z zakresu suplementacji



Bibliografia

- ➔ *Badania genetyczne z zastosowaniem technologii sekwencjonowania następnej generacji (NGS) – Raport Agencji Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji, 2020 [data dostępu: 15.01.2023].*
- ➔ Galbiati, *WES and WGS, a comparison of usage*, enGenome: https://www.engenome.com/news/wes_wgs/ [data dostępu: 17.01.2023].
- ➔ Lord, Brugha, Charman et al., *Autism spectrum disorder*, Nat Rev Dis Primers 2020, 6, 5.
- ➔ Meienberg et al., *Clinical sequencing: is WGS the better WES?* Human genetics 2016, 135 (3), 359–362.
- ➔ Petersen et al., *Opportunities and challenges of whole-genome and -exome sequencing*. BMC Genet 2017, 18, 14.
- ➔ Rylaarsdam, Guemaz-Gamboa, *Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder*, Sec. Cellular Neuropathology 2019, V. 13.
- ➔ Schwarze, Buchanan, Taylor et al., *Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature*, Genet Med 20, 1122–1130 (2018).
- ➔ Shakiba, Keramatipour, *Effect of Whole Exome Sequencing in Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism and Neurogenetic Disorders*, Iran J Child Neurol. 2018 Winter; 12(1): 7–15.
- ➔ Wang, Zhi-Jian, Yong-Hong et al., *Epilepsy-associated genes*, Seizure, European Journal of Epilepsy, Vol. 44, 2017.
- ➔ *WES vs. WGS vs. Custom Panels*: <https://sequencing.roche.com/us/en/article-listing/wes-wgs-custom.html> [data dostępu: 18.01.2023].

