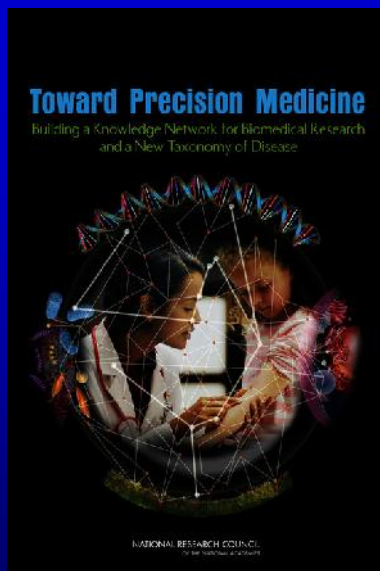


Nasljedne metaboli ke bolesti u doba precizne medicine



Ivo Bari

Klinika za pedijatriju, Klini ki bolni ki centar, Zagreb



„4P-medicina”
preventivna
prediktivna
personalizirana
participiraju a

Hood L, Balling R, Auffray C. Revolutionizing medicine in the 21st century through systems approaches. *Biotechnol J*. 2012;7(8):992–1001. Provides an overview of the science and technological foundations of predictive, preventive, personalized and participatory healthcare.
A New Biology for the 21st Century: Ensuring the United States Leads the Coming Biology Revolution. National Academies Press; MD, USA: 2009. National Research Council (US) Describes the transformative power of systems approaches to biology and medicine.

Era „high-throughput” tehnologije

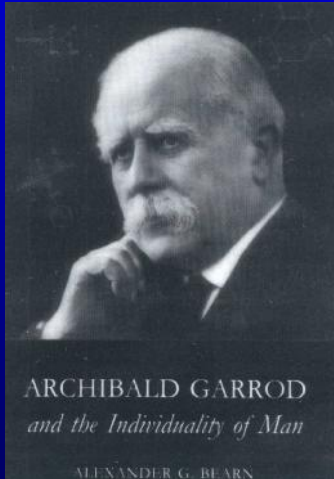
Registri, biobanke, baze podataka, napredak tehnologije, kompjutorski programi

Genomika	✓
Transkriptomika	🔭
Epigenomika	🔭
Proteomika	✓
Glikomika	🔭
Metabolomika	+
Lipidomika	+
Interaktomika	🔭

Prilika za holisti ki pristup i kontekstualno patofiziološko razumijevanje s posljednom preciznom dijagnozom i individualiziranim lije enjem



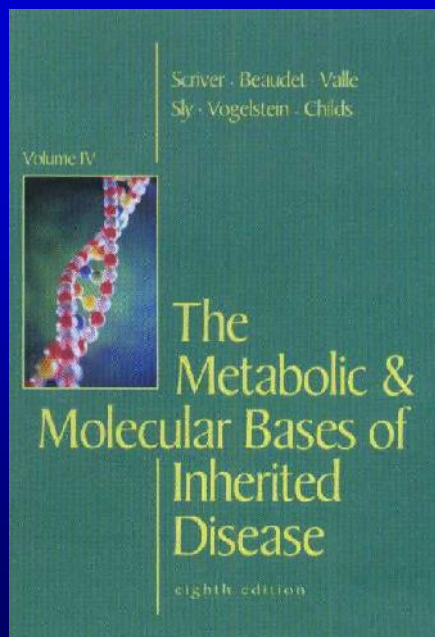
Nasljedne metaboli ke bolesti- davni za eci precizne i personalizirane medicine



Garrod AE. The incidence of alkaptonuria. A study in chemical individuality. Lancet 1902;ii:1616-1620.

Garrod AE. Inborn errors of metabolism. Oxford University Press. Oxford, 1909.

- alkaptonurija – cistinurija – pentozurija - albinizam -



2001. godina

☞ 4 sveska

☞ preko 500 autora

☞ oko 7000 stranica

☞ preko 500 bolesti

**Danas: on-line izdanje, više
od 1000 bolesti, broj autora ?**

Osobitost nasljednih metaboli kih bolesti - patogeneza

promjene gena (mutacije)

É

promjene genskog produkta (proteina)

É

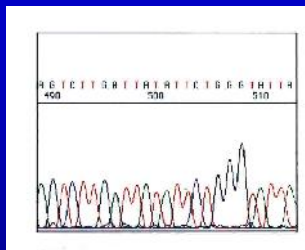
posljedi ne biokemijske promjene

É

promjene u klini koj slici

Patogeneza – primjer fenilketonurije

mutacije gena za fenilalaninhidroksilazu



smanjena aktivnost
fenilalaninhidroksilaze

Fenilalanin

↓

Tirozin

povišena koncentracija fenilalanina



mentalna retardacija, neurološki
ispadi



Fenilketonurija- u inkovitost terapijskog odgovora na kofaktor sapropterin ovisna je o genotipu

Molecular Genetics and Metabolism 97 (2009) 165–171

Contents lists available at ScienceDirect

Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymgme

ELSEVIER

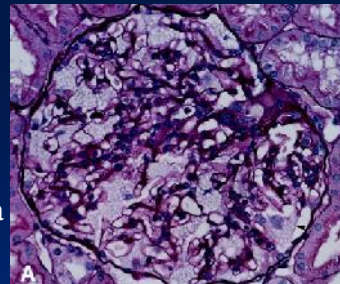
Genotype-predicted tetrahydrobiopterin (BH₄)-responsiveness and molecular genetics in Croatian patients with phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency

Iva Karačić^a, David Meili^b, Vladimir Sarnavka^c, Caroline Heintz^b, Beat Thöny^b, Danijela Petković Ramadža^c, Ksenija Fumić^d, Duško Mardešić^{a,c}, Ivo Barić^{a,c,*}, Nenad Blau^{b,*}

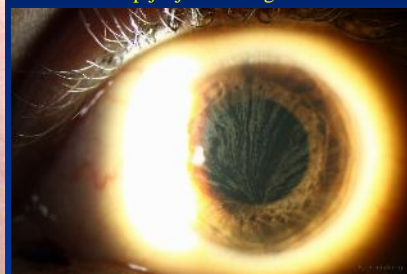
^aSchool of Medicine, Zagreb, Croatia
^bDivision of Clinical Chemistry and Biochemistry, University Children's Hospital, Steinwiesstrasse 75, 8032 Zürich, Switzerland
^cDepartment of Pediatrics, University Hospital Center, Zagreb, Croatia
^dClinical Institute of Laboratory Diagnosis, University Hospital Center, Zagreb, Croatia

Fabryjeva bolest

➤ Zbog manjka enzima -galaktozidaze A dolazi od nakupljanja glikosfingolipida, osobito globotriaosilceramida (GL-3, Gb-3), u endotelu krvnih žila i tkivima raznih organa



Nakupljanje GL-3 u glomerulima.

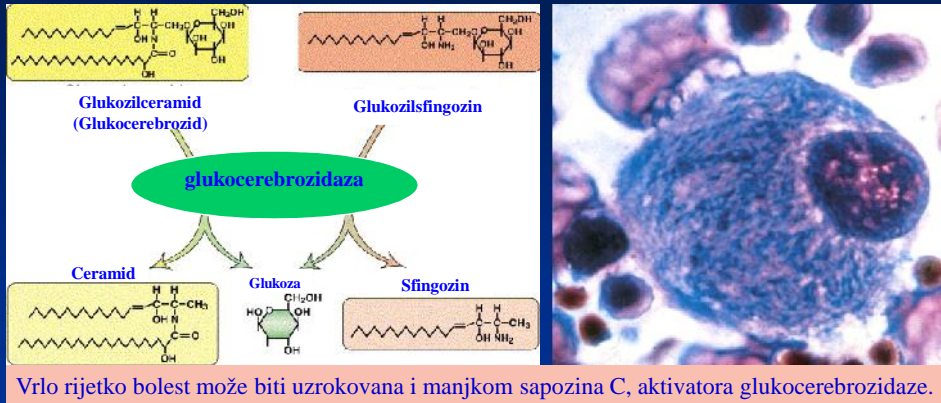


Lije enje: Simptomatska terapija, enzimaska nadomjesna terapija, molekule pratitelji (migalastat), ovisno o genotipu !

<http://www.galafoldamenabilitytable.com/hcp>

Gaucherova bolest- osnove

- Naj eš a lizosomska bolest, uzrokovana manjkom enzima glukocerebrozidaze zbog mutacija gena *GBA* (dosad oko 300 mutacija)



Vrlo rijetko bolest može biti uzrokovana i manjkom sapozina C, aktivatora glukocerebrozidaze.

- Posljedica enzimskog manjka je nakupljanje glikolipida (glukocerebrozida- glukozilceramida) u monocitima i makrofagima u koštanoj srži, središnjem živ anom sustavu, jetri, slezeni, plu ima

Gaucherova bolest

- Ovisno o rezidualnoj aktivnosti, postoje 3 osnovna tipa:

Tip 1: kroni ni ili ne-neuropatski ili adultni tip

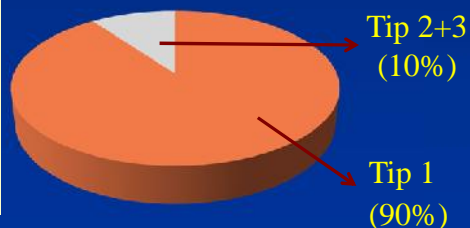
Tip 2: akutni, infantilni neuropatski tip

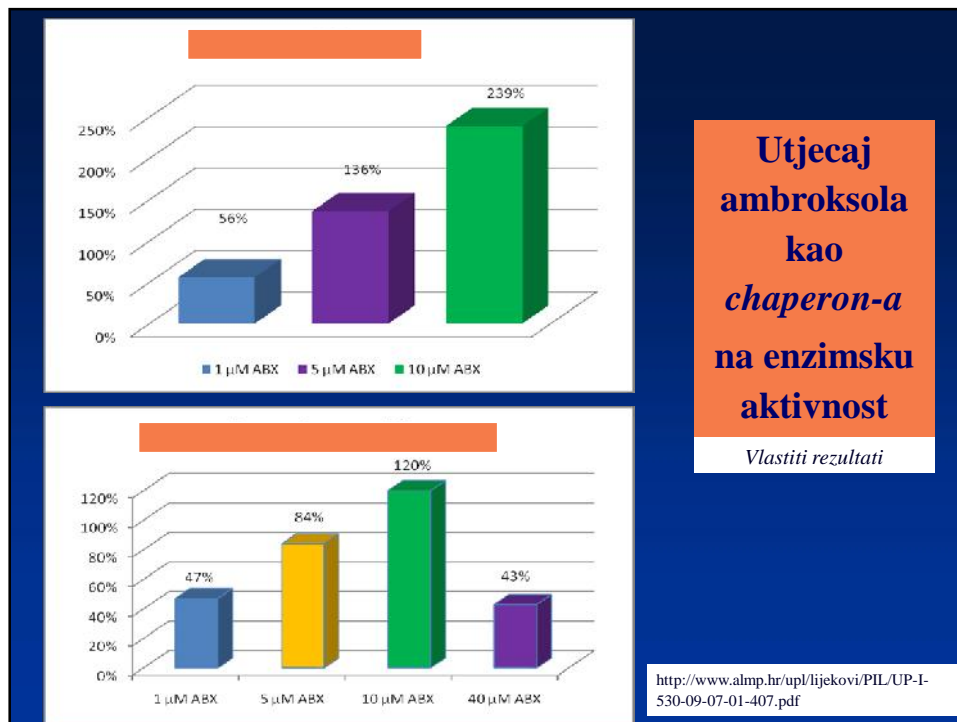
Tip 3: juvenilni, kroni ni neuropatski tip

Incidencija
~ 1:75 000

Zapravo: kontinuirani spektar od najtežih do najblažih oblika

Lije enje: Simptomatsko, transplantacija hematopoetskih stanica, inhibicija sinteze supstrata, enzimska nadomjesna terapija, male molekule-pratitelji (ambroksol..)- ovisno o genotipu!





Izazovi suo avanja s nalazima NGS-a

- est nalaz varijanti nepoznatog zna enja (VUS)
- esto nedostaje mogu nost funkcionalnog testiranja VUS-a, poglavito u doma im uvjetima
- Slab interes neprofitabilnih institucija za testiranje lanova obitelji na na ene mutacije u probanda
- esto nepotpuna informacija za vjerojatno patogene varijante (nedostaje objašnjenje patogenosti i/ili korištenje software-a za testiranje patogenosti)
- Vrijeme predvi eno za analizu nalaza i pretvaranje nalaza u shvatljivo pisano mišljenje konzumenta usluge je prekratko (kako od strane HZZO-a tako i realno s obzirom na druge obaveze lije nika)
- Nedefinirana obaveza unošenja lokalnih spoznaja u me unarodne baze podataka

Izazovi suo avanja s nalazima NGS-a

- Ograni enja metode/nalaza (nepokrivenost pojedinih gena ili dijelova gena, nedetektiranje odre enih vrsta mutacija,...)
- Neregulirano navo enje usputnih (za aktualne simptome irelevantnih?) nalaza
- Neregulirana mogu nost naknadne analize nalaza, primjerice kad pacijent dobije nove simptome ili se pojave nove spoznaje (primjerice o nekim mutacijama ili tijeku bolesti)
- Nemogu nost korisnika da shvati nalaz i da ponese odgovornost za njegovo pravilno korištenje za sebe, svoju obitelj i ro ake; nedefiniran nositelj odgovornosit za prijenos informacije lanovima obitelji i njezino optimalno korištenje

Neravnoteža ekspresije alela: Koliko zapravo heterozigota boluje od autosomno recesivnih bolesti? Pazimo li kako tuma imo rezultate NGS-a?

ARTICLE

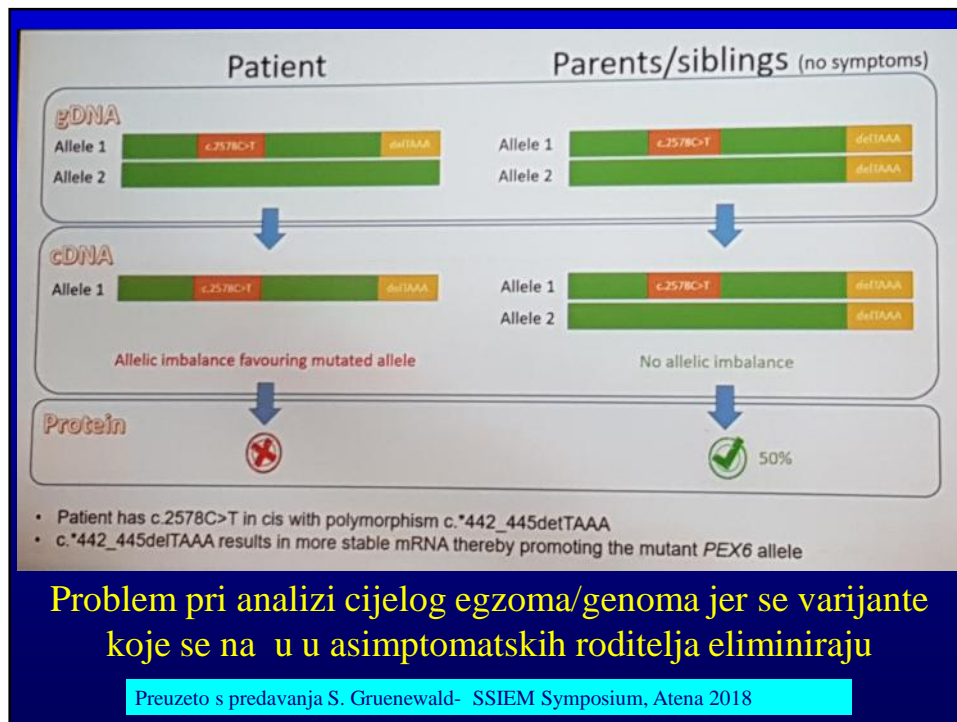
Allelic Expression Imbalance Promoting a Mutant *PEX6* Allele Causes Zellweger Spectrum Disorder

Kim D. Falkenberg,¹ Nancy E. Braverman,² Ann B. Moser,³ Steven J. Steinberg,⁴ Femke C.C. Klouwer,^{1,5} Agatha Schlüter,^{6,7} Montserrat Ruiz,^{6,7} Aurora Pujol,^{6,7,8} Martin Engvall,^{9,10} Karin Naess,^{9,11} Francjan van Spronsen,¹² Irene Körver-Keularts,¹³ M. Estela Rubio-Gozalbo,^{13,14} Sacha Ferdinandusse,¹ Ronald J.A. Wanders,¹ and Hans R. Waterham^{1,*}

Zellweger spectrum disorders (ZSDs) are autosomal-recessive disorders that are caused by defects in peroxisome biogenesis due to bi-allelic mutations in any of 13 different *PEX* genes. Here, we identified seven unrelated individuals affected with an apparent dominant ZSD in whom a heterozygous mutant *PEX6* allele (c.2578C>T [p.Arg860Trp]) was overrepresented due to allelic expression imbalance (AEI). We demonstrated that AEI of *PEX6* is a common phenomenon and is correlated with heterozygosity for a frequent variant in the 3' untranslated region (UTR) of the mutant allele, which disrupts the most distal of two polyadenylation sites. Asymptomatic parents, who were heterozygous for *PEX* c.2578C>T, did not show AEI and were homozygous for the 3' UTR variant. Overexpression models confirmed that the overrepresentation of the pathogenic *PEX6* c.2578T variant compared to wild-type *PEX6* c.2578C results in a peroxisome biogenesis defect and thus constitutes the cause of disease in the affected individuals. AEI promoting the overrepresentation of a mutant allele might also play a role in other autosomal-recessive disorders, in which only one heterozygous pathogenic variant is identified.



The American Journal of Human Genetics 101, 965–976, December 7, 2017 965



Izazovi procjene nejasnih nalaza NGS-a- (mjesto metabolomike)

- Nužnost potvrde nejasnih nalaza NGS-a ili novoro ena kog probira biokemijskim pretragama- optimalno neciljanom metabolomikom kao univerzalnom biokemijskom testnom metodom
- Problem integracije, pažljive interpretacije goleme koli ine podataka i pretvorbe u klini ki smislenu informaciju i korisnu reakciju za pacijenta
- Metabolomika je važna za procjenu dijagnoze, patogeneze i pra enje lije enja
- Nužna je suradnja, izmjena podataka, funkcionalni testovi za evaluaciju nalaza –omike

Primjeri teško a u interpretaciji NGS-a

1. Pacijent u dobi od godinu dana s epilepsijom i teškim psihomotori kim zaostajanjem- **epi-panel**- *missense* mutacija c. 2239A>G gena (p.Thr747Ala) *SCN9A* nejasnog klini kog zna enja (je li uzrok?, tražiti dalje?)
2. Pacijentica 27 godina, unatrag pola godine s nejasnom diplopijom, slabosti, klecanjem, pulsiraju om glavoboljom, gr evima u listovima i prstima, sumnjom na mitohondriopatiju, psihi ki nestabilna- sama platila **egzom**- na ene mutacije u genu *SYNE1* (*progresivna nelje iva bolest koja zahva a mali mozak; opisana prije nekoliko godina*)- **upit odgovara li nalaz klini koj slici**- s obzirom na klini ku sliku i MR mozga koji ne pokazuju zahva enost cerebeluma ne odgovara- **službeni nalaz- nije na eno ništa relevantno** (kako ne re i pacijentici, što ako razvije simptome i nastavi se dijagnosti ko lutanje, ho e li se javiti, što ako bolest postane lje iva, a dijagnoza ostane nepriop ena?)



Povijest novoro ena kog skrininga

- 1961 R. Guthrie - *fenilketonurija*
rane 70e galaktozemija, leucinoza, homocistinurija,
cisti na fibroza
1978 *konatalna hipotireoza*
1987 manjak biotinidaze
1995 kongenitalna adrenalna hiperplazija
1996 *tandemska spektrometrija masa- poreme aji
razgradnje masnih kiselina i karnitinskog
ciklusa, organske acidurije, aminoacidopatije,
...(incidencija 1:2000)*
~ 2010 > teška kombinirana imunodeficijencija,
lizosomske bolesti, X-vezana
adrenoleukodistrofija.....
Regionalno- mnoge druge bolesti (npr. hemoglobinopatije)

U razvijenim zemljama
probirom se otkriva i više od
50 bolesti (aminoacidopatije,
poremećaji razgradnje
masnih kiselina, organske
acidurije,...)



Nepoznat udio otkrivenih koji
nikad ne bi razvili simptome bolesti

Budu nost novoro ena kog probira

- Sve ve e korištenje drugostupanjskih testova
- **Korištenje metoda masivne analize metaboloma**
- Uklju ivanje masivnog sekvencioniranja gena (*whole exome sequencing, whole genome sequencing*) u novoro ena ki probir
- **Izrazito proširenje skrininga (u RH u po etku pove anje broja uklju enih bolesti bez bitnog pove anja troška)**
- Novi eti ki izazovi...



***novoro ena ki skrining je vrlo dinami na aktivnost i trajno je vrsta pilot-projekta !**

Završne poruke (trebalo bi...)

- Osigurati dovoljne dijagnosti ke kapacitete koji bi jam ili prihvatljivu razinu usluge
- Proširiti spektar usluga iz podru ja dijagnosti kog NGS-a (novi paneli, klini ki egzom, cijeli egzom, cijeli genom)
- Pove ati broj ljudi koji mogu dovoljno kvalitetno tuma iti prispjele nalaze NGS-a
- Posti i suglasje što uklju iti, a što ne u nalaze NGS-a
- Ulagati u specifi nu edukaciju lije nika, geneti ara, molekularnih biologa, bioinformati ara, biokemi ara..
- Osigurati stabilan rad postoje e opreme
- Dodatno proširiti novoro ena ki probir (drugostupanjski testovi, testovi potvrde)
- Uvesti neciljanu analizu proteoma i metaboloma u dijagnosti ke svrhe
- Uskladiti napore za poboljšanje dijagnosti kih kapaciteta (nacionalni konsensus, projekti od nacionalne važnosti, investicije od nacionalnog interesa)