



Diagnostyka wrodzonych wad metabolizmu

Prof. IMID dr hab.n.med. Agnieszka Rygiel

Zakład Genetyki Medycznej
Instytut Matki i Dziecka

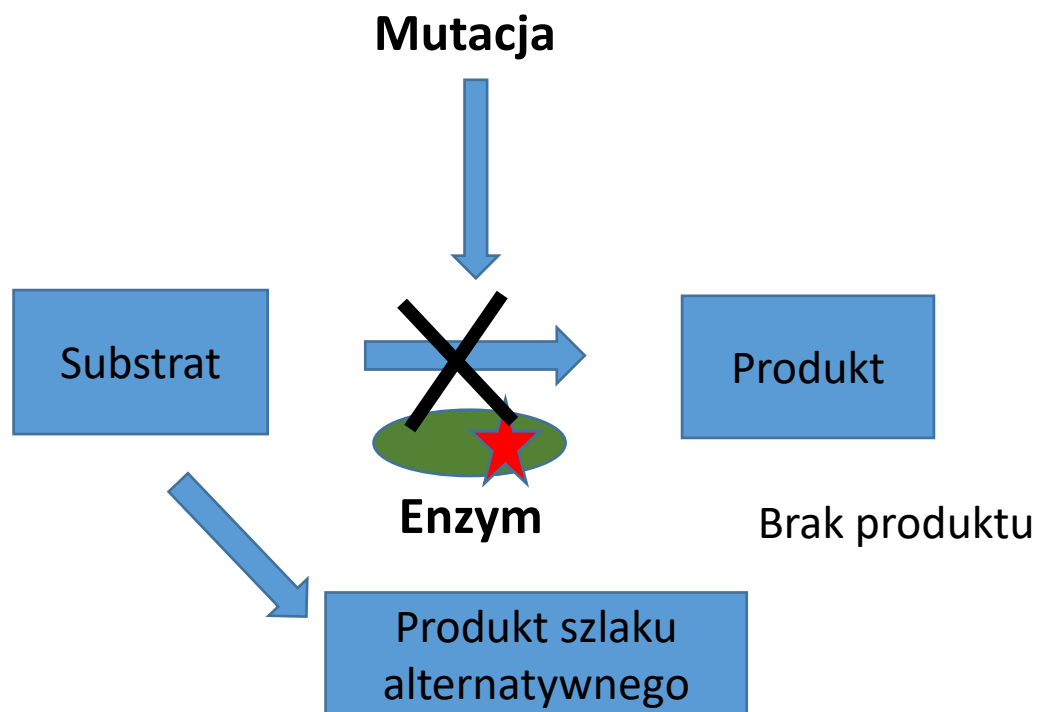
KURS: Choroby genetyczne wieku rozwojowego 28-29.05.2020

Wrodzone Wady Metabolizmu (WWM)

Inborn Errors of Metabolism (IEM)

- **Wrodzone wady metabolizmu (WWM)** są grupą chorób powodowanych przez mutacje w genomowym bądź mitochondrialnym DNA.
- Objawy są wynikiem zaburzeń szlaków metabolicznych
- Objawy klinicznie heterogenne, wielonarządowe
- Choroby rzadkie lub ultrarzadkie **>1/ 50 000** w populacji ogólnej

Wrodzone Wady Metabolizmu (WWM)



Diagnostyka biochemiczna

Diagnostyka molekularna

Obawy kliniczne

Diagnostyka fenotypowa

Diagnostyka biochemiczna WWM

- badania biochemiczne mają na celu wykrycie w płynach ustrojowych zaburzenia szlaku metabolicznego
 - analiza za pomocą badania **chromatografii gazowej** sprzężonej ze **spektrometrią masową (GC-MS)**
 - badanie wysuszonej kropli krwi pobieranej na specjalną bibułę do badań za pomocą **tandemowej spektrometrii masowej (MS/MS)**
- specjalistyczne badania **oznaczania aktywności enzymów** w tkankach (zwykle w fibroblastach, w elementach morfotycznych krwi, biopsatach tkanek)

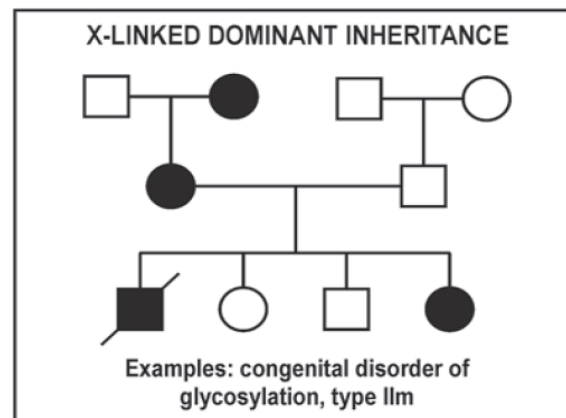
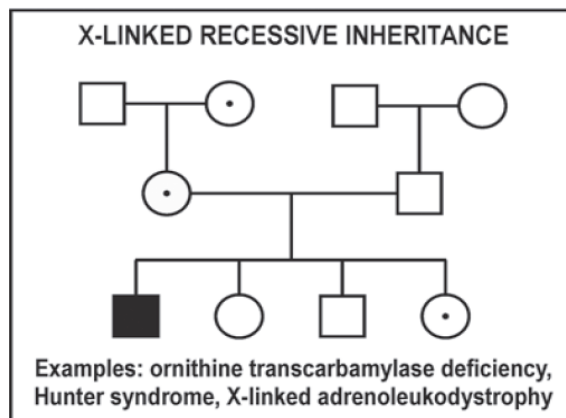
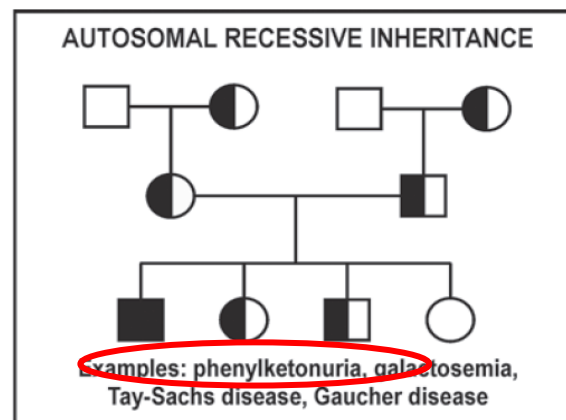
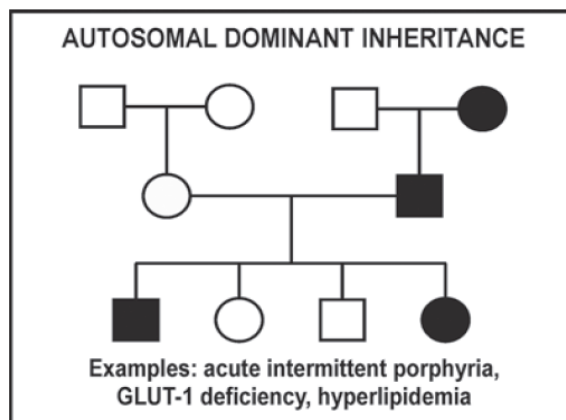
Diagnostyka molekularna WWM

- Badanie DNA mające na celu wykrycie mutacji genu, której skutkiem jest zaburzenie szlaku metabolicznego
- Uwarunkowane monogenowo, zazwyczaj dziedziczone w sposób autosomalny recesywny, rzadziej autosomalnie dominująco bądź w sposób sprzężony z chromosomem X lub mitochondrialnie
- Określenie defektu genetycznego jest niezbędne dla celów poradnictwa genetycznego i stanowi podstawę do włączenia odpowiedniego leczenia (np. enzymatyczna terapia zastępcza)

Klasyfikacja WWM

Zaburzenia	Przykłady
Metabolizmu Aminokwasów	Fenylketonuria, Alkaptonuria, Homocysteinuria
Metabolizmu Węglowodanów	Galatozemia, Choroby spichrzeniowe glikogenu
Metabolizmu Porfiryn	Porfiryndria
Metabolizmu Puryn/Pirymidyn	Syndrom Lesch-Nyana
Metabolizmu Sterydów	Wrodzony przerost nadnerczy
Funkcji Mitochondriów	Syndrom Kearns-Sayre'a
Funkcji Peroksysomu	Syndrom Zellweger'a
Funkcji Lizosomów	Spichrzeniowe choroby Lizosomalne

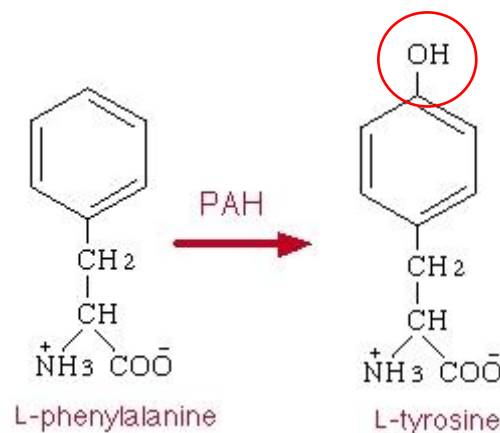
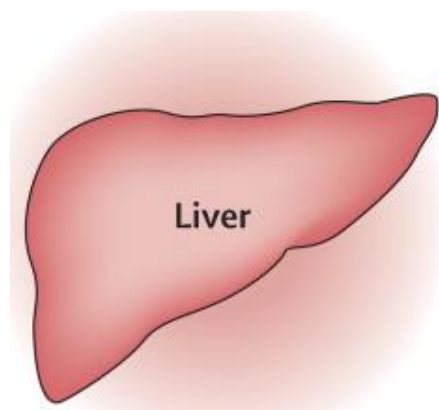
Sposoby dziedziczenia w WWM

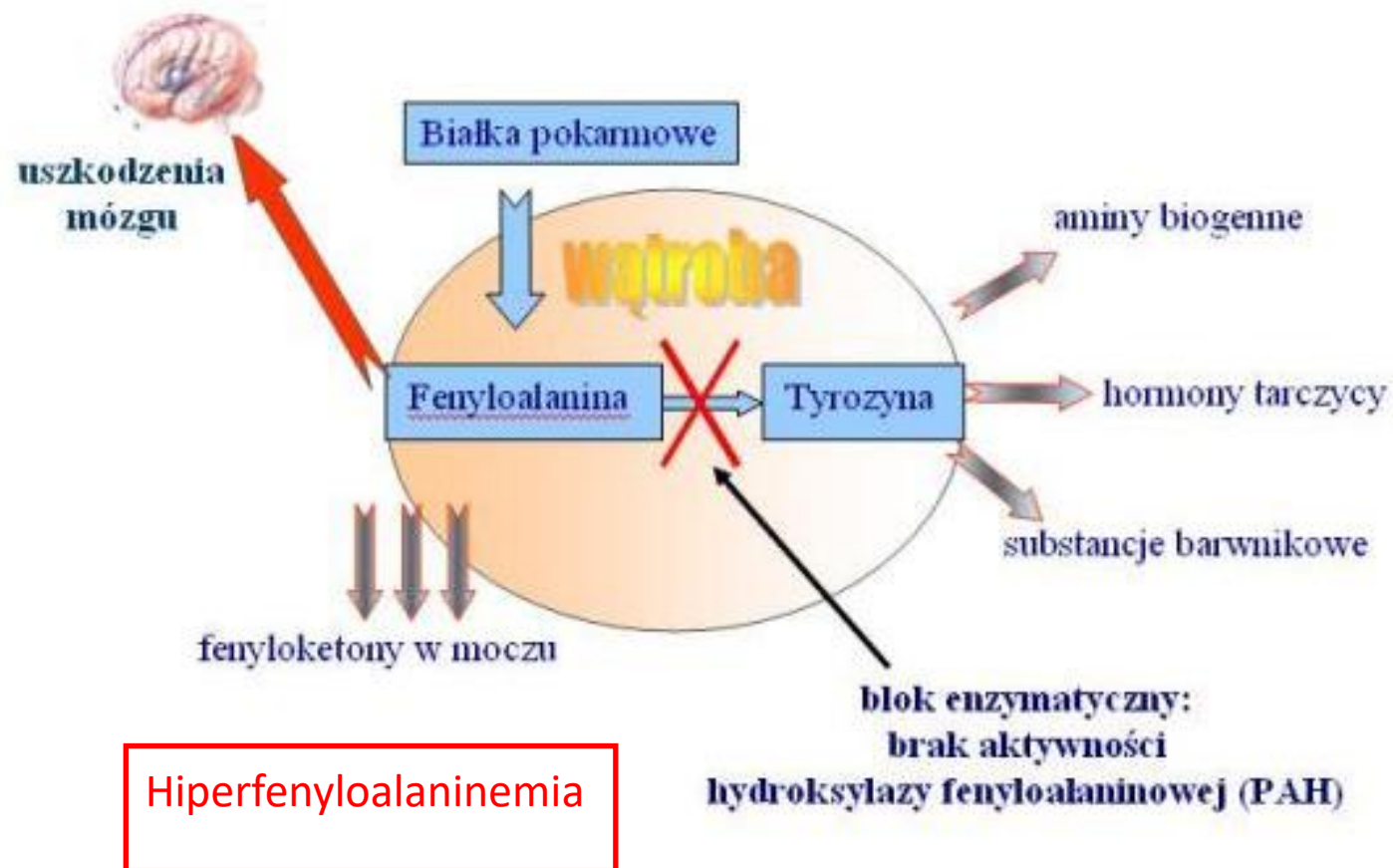


Fenyloketonuria

(ang.: **P**HENYL**K**ETON**U**RIA, PKU)

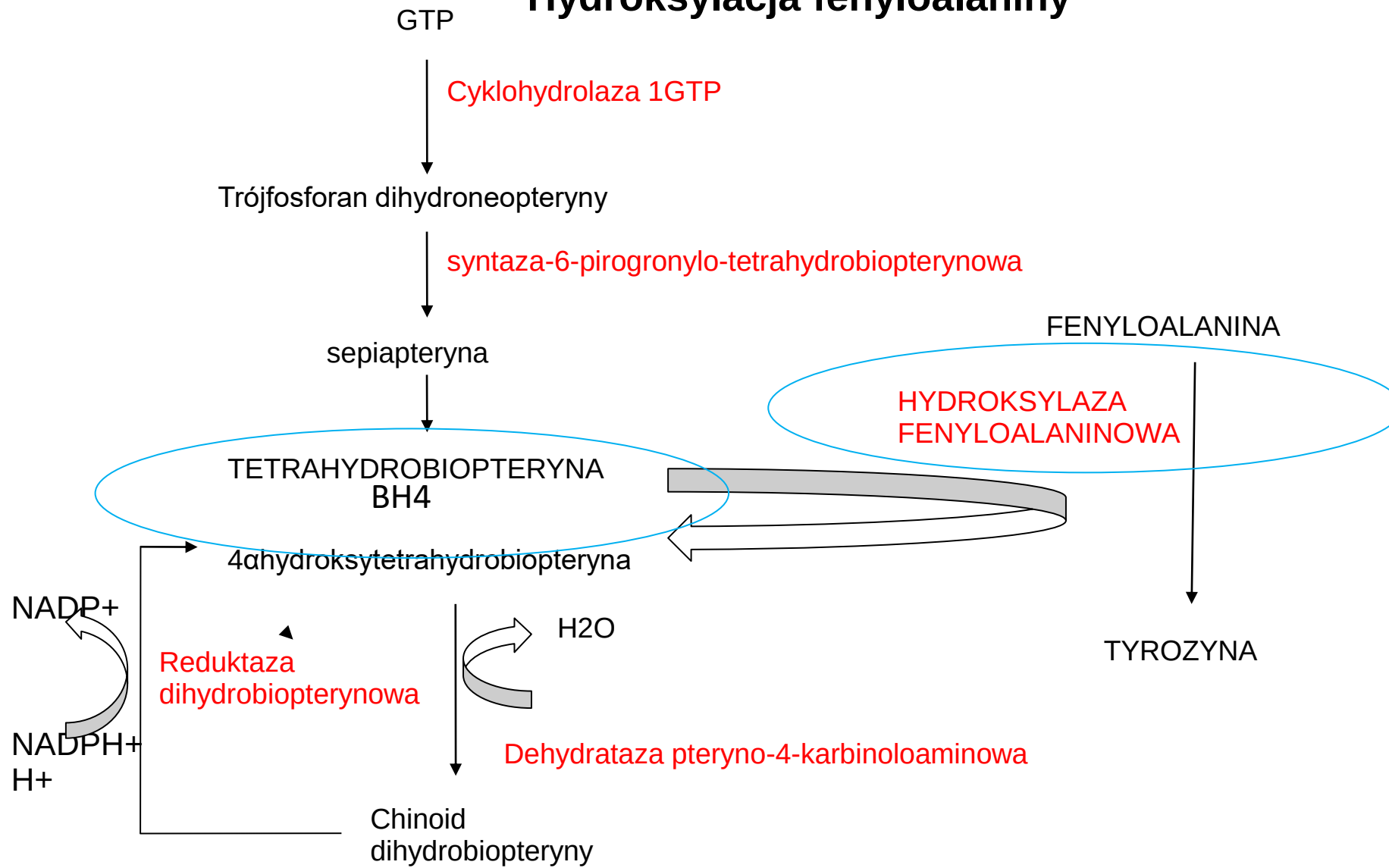
- Jest najczęstszą wrodzoną wadą w metabolizmie aminokwasów (1/6000 - 8000 urodzeń) objęta przesiewem noworodkowym od lat 60 tych (test Gutrhiego).
- Klasyczna postać polega na całkowitym braku lub znacznym ograniczeniu aktywności enzymu **hydroksylazy fenyloalaninowej (PAH)**.
- mutacje w genie *PAH*, dziedziczenie autosomalne recesywne





Poradnik ARS VIVENDI dla chorych na fenyloketonurię, edycja I
Oraz <http://public-health.artmetec.pl>

Hydroksylacja fenyloalaniny



Przyczyny hiperfenyloalaninemii

- pierwotny deficyt hydroksylazy fenyloalaniny (PAH)
 - ◆ klasyczna fenyloketonuria
 - ◆ łagodna fenyloketonuria
 - ◆ łagodna hiperfenyloalaninemia
- deficyt BH4-tetrahydrobiopteryny
- deficyt reduktazy dihydropterydyny (DHPR)

Deficyt lub brak aktywności hydroksylazy fenyloalaniny odpowiada za ok 98% przypadków hiperfenyloalaninemii

- deficyt reduktazy dihydropterydyny (DHPR)
- deficyt dehydratazy karbinoloaminowa pteryny (PCD)
- wcześniactwo
- tyrozynergia
- niewydolność wątroby
- całkowite żywienie pozajelitowe

Przyczyny hiperfenyloalaninemii

- pierwotny deficyt hydroksylazy fenyloalaniny (PAH)
 - ◆ klasyczna fenyloketonuria
 - ◆ łagodna fenyloketonuria
 - ◆ łagodna hiperfenyloalaninemia
- deficyt BH4-tetrahydrobiopteryny
- deficyt cyklohydrolazy guanazyno-trójfosforanu (GTP-CH)
- deficyt syntazy 6-pirogtonylo-tetrahydropteryny (6-PTPS)
- deficyt reduktazy dihydropteryny (DHPR)
- deficyt dehydratazy karbinoloaminowa pteryny (PCD)
- wcześniactwo
- tyrozynergia
- niewydolność wątroby
- całkowite żywienie pozajelitowe

Przyczyny hiperfenyloalaninemii

- pierwotny deficyt hydroksylazy fenyloalaniny (PAH)
 - ◆ klasyczna fenyloketonuria
 - ◆ łagodna fenyloketonuria
 - ◆ łagodna hiperfenyloalaninemia
- deficyt BH4-tetrahydrobiopteryny
- deficyt cyklohydrolazy guanazyno-trójfosforanu (GTP-CH)
- deficyt syntazy 6-pirogtonylo-tetrahydropteryny (6-PTPS)
- deficyt reduktazy dihydropteryny (DHPR)
- deficyt dehydratazy karbinoloaminowa pteryny (PCD)
- wcześniactwo
- tyrozynergia
- niewydolność wątroby
- całkowite żywienie pozajelitowe

Badanie molekularne – analiza mutacji w genie *PAH*



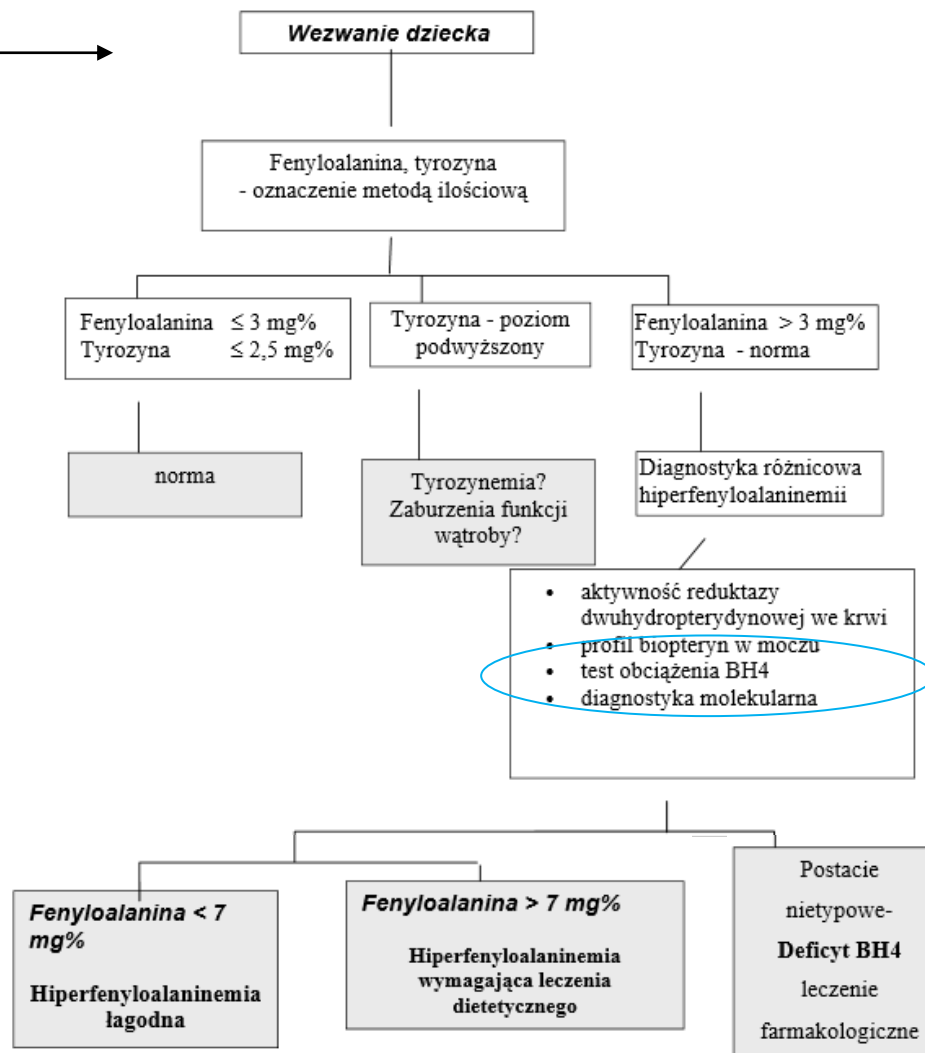
- Najczęstsze mutacje w populacji polskiej (ekson 5, 11, 12)
- W dalszej kolejności analiza pozostałych regionów genu
- Po wykluczeniu mutacji punktowych badanie rearanżacji genu *PAH* (np. delecja eksonu 3)
- Umożliwia weryfikację rozpoznania klinicznego i biochemicznego
- Ułatwia wybór i planowanie optymalnego sposobu leczenia
- Jest podstawą poradnictwa genetycznego w rodzinach ryzyka oraz służy określaniu nosicielstwa mutacji

Postępowanie diagnostyczne: program badań przesiewowych noworodków

Tandemowa

spektrometria mas - ↑ →

Phe; Phe/Tyr > 1,3-1,5



Objawy kliniczne PKU

- charakterystyczny zapach mysi moczu
- zmiany skórne (suchość, stany zapalne, wypryski)
- dziecko jest rozdrażnione
- czasem obficie i chlustająco wymiotuje

Skutki braku diagnozy i leczenia :

- **opóźnienie rozwoju psychoruchowego** – dziecko nie podnosi główki, nie siada we właściwym czasie,
- późno staje, zaczyna chodzić z dużym opóźnieniem lub nie chodzi wcale
- obwód główki jest często mały ponieważ nie rozwija się mózg (**małogłowie w 90% przypadków PKU**)
- zaburzenia mielinizacji, zaburzenia w składzie i stosunkach ilościowych lipidów ośrodkowego układu nerwowego



Boy with untreated PKU

Typowy wygląd dziecka nie leczonego: jasna karnacja, jasne włosy, niebieska barwa oczu (zaburzenie produkcji melanin)

Gdy zauważa się nieprawidłowości w rozwoju niemowlęcia jest już za późno na skuteczne leczenie

Leczenie PKU

Jedyny skuteczny sposób leczenia postaci klasycznej PKU
jest dieta z ograniczoną ilością fenyloalaniny

Wybrane zalecenia

- Wprowadzenie diety niskofenyloalaninowej jak najwcześniej, optymalnie przed upływem 21 doby życia dziecka
- Włączenie leczenia natychmiast przy poziomach fenyloalaniny $> 10 \text{ mg\%}$, lub po kilku dniach codziennej kontroli jeśli stężenie fenyloalaniny utrzymuje się w granicach $7-10 \text{ mg\%}$
- Prowadzenie leczenia w oparciu o nowoczesne preparaty bezfenyloalaninowe wg. określonych schematów, z uwzględnieniem w każdym przypadku indywidualnej podaży fenyloalaniny.
- Regularne monitorowanie wybranych wskaźników biochemicznych we krwi chorego (m. in. stężenia fenyloalaniny, tyrozyny, białka całkowitego).
- Leczenie dziewcząt i kobiet do oraz przez cały okres prokreacji z uwagi na uszkadzające działanie wysokich stężeń fenyloalaniny na rozwój płodu.
- Kontynuacja leczenia i monitorowania leczenia choroby u osób dorosłych
- W niektórych przypadkach wskazane jest prowadzenie diagnostyki molekularnej u pacjentów z hiperfenyloalaninemią w celu ostatecznej weryfikacji rozpoznania postaci nietypowych

W diecie tej należy również uwzględnić dodatkową podaż tyrozyny, która powstaje w organizmie z fenyloalaniny

Tolerancję na fenyloalaninę określa lekarz. Każde dziecko ma swoją indywidualną tolerancję na podaż fenyloalaniny i zmienia się kilkakrotnie w życiu

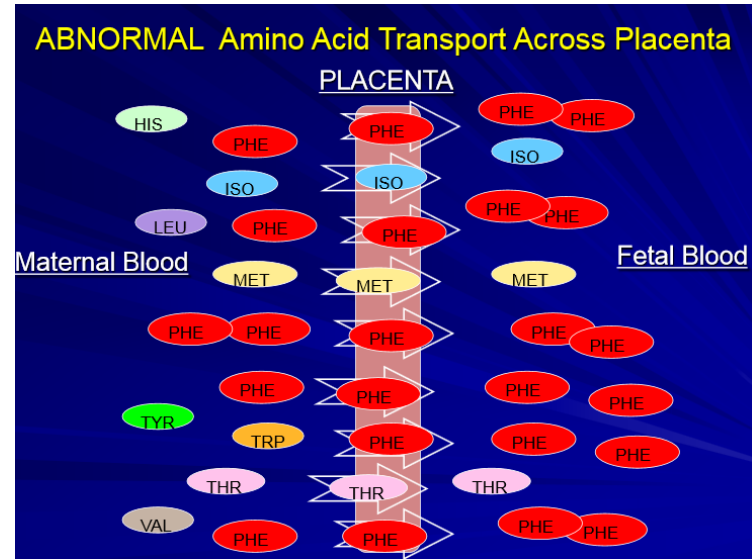
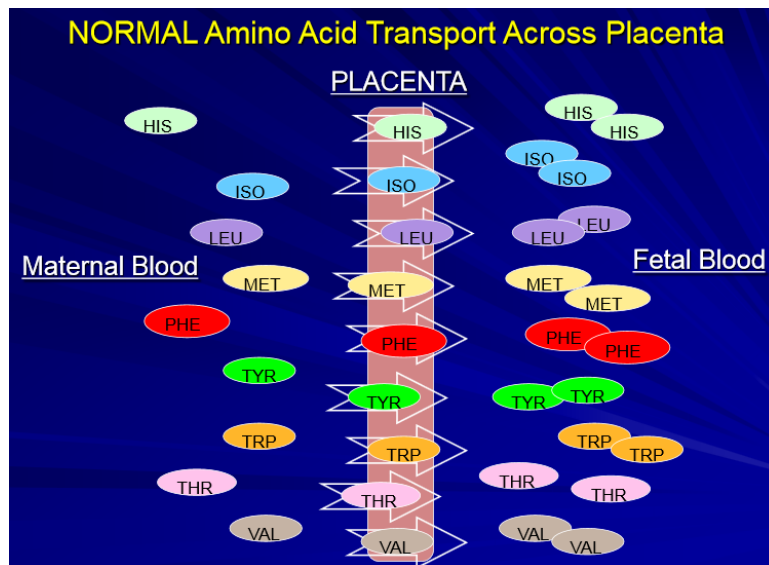
Fenyloketonuria matczyna MPKU

Łożysko nie stanowi bariery dla fenyloalaniny!

Do zespołu objawów MPKU należą:

- opóźnienie rozwoju psychoruchowego (92-95%),
- małogłowie (73-90%),
- wrodzone wady serca (12-40%),
- niska masa urodzeniowa (40-50%).

Uszkodzenie płodu jest nieodwracalne, nawet jeśli płód jest zdrowy!



Amy Cunningham,
MS, LDN, RD ;
Tulane University
Medical Center;
Hayward Genetics
Center



Kuvan u pacjentów PKU (reagujących na leczenie BH4):

- poprawienie aktywności nieprawidłowej hydroksylazy fenyloalaniny
- zapobieganie lub zmniejszanie dalszej kumulacji fenyloalaniny
- zwiększanie tolerancji na podaż fenyloalaniny, zawartej w stosowanej diecie.

U pacjentów z niedoborem BH4 produkt leczniczy:

Kuvan stosuje się w celu uzupełnienia zbyt małego stężenia BH4 we krwi, prowadząc do przywrócenia aktywności hydroksylazy fenyloalaniny.

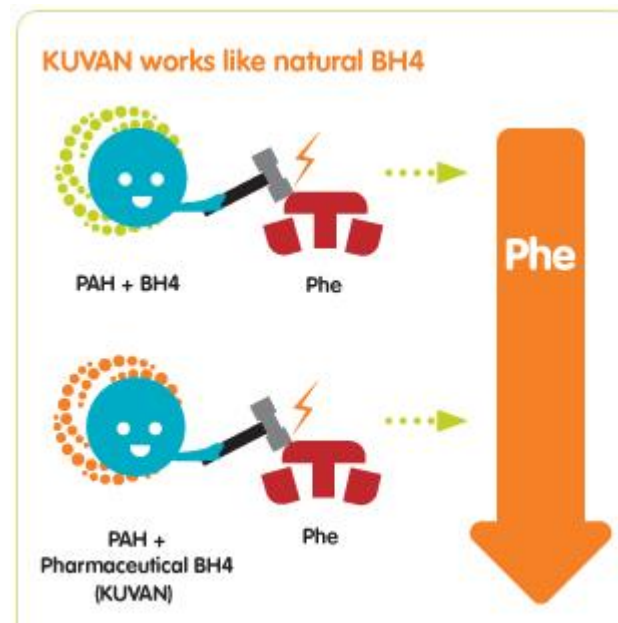
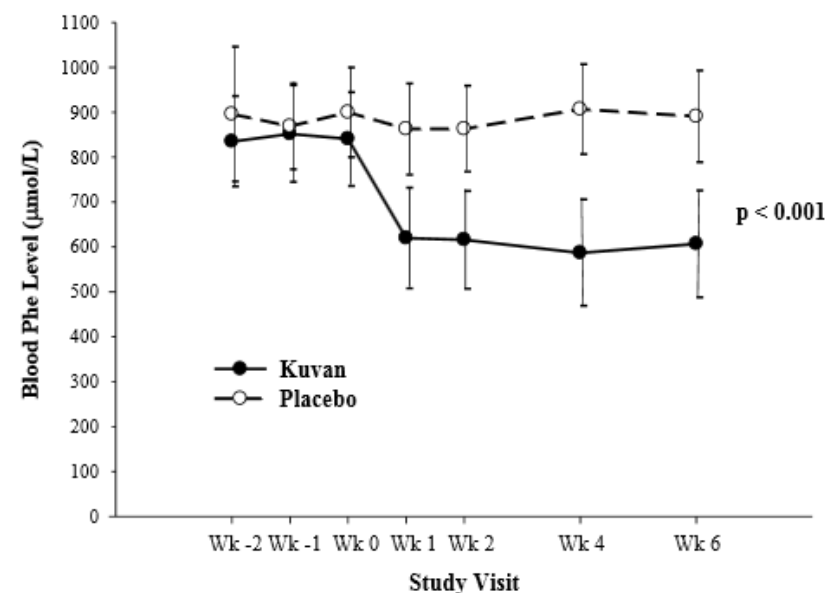


Figure 1: Mean Blood Phenylalanine (Phe) Level Over Time



Test biochemiczny z obciążeniem BH4 jest podstawowym testem określającym czy Pacjent reaguje na leczenie BH4

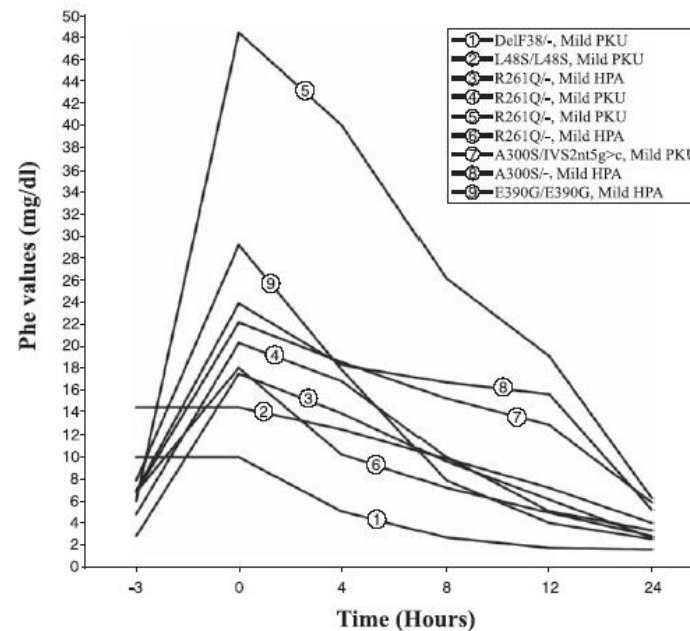


Fig. 1. Courses of plasma Phe concentrations during a challenge with BH₄ or Phe/BH₄ of nine good responder patients with indicated genotypes and phenotypes.

CZY GENOTYP DETERMINUJE ODPOWIEDŹ NA BH4 ??????

Ustalono pewne korelacje pomiędzy występowaniem określonych **genotypów**, a odpowiedzią na BH4, jednakże analizy takie mają charakter uzupełniający i aktualnie nie mają charakteru diagnostycznego!!!!!!

BIOPKU

BIOPKU

międzynarodowa genotypowo-fenotypowa
baza danych Pacjentów z PKU

Allele	p.R408W	p.R408W
Variant	p.R408W	p.R408W
Nucleotide Aberration	c.1222C>T	c.1222C>T
Predicted PAH Activity		
Predicted BH4 responsiveness	not yet in place	
Predicted phenotype value:	not yet in place	

Phenotype % (number of records)

N/A (or not reported) 0

Classic PKU	99.55% (891)
Mild PKU	0.45% (4)
MHPA	0% (0)

BH4 Responsiveness % (number of records)

Not tested 815

Yes	0% (0)
No	100% (80)
Slow	0% (0)

World Region % (number of records)

North Europe	3.53% (31)
East Europe	83.39% (733)
Middle Europe	6.03% (53)
South Europe	1.02% (9)
Middle East	0.68% (6)
Asia	0% (0)
North America	4.55% (40)
Latin America	0.11% (1)

<http://www.biopku.org/biopku/search-start.asp>

Wrodzone Wady Metabolizmu (WWM)

Diagnostyka



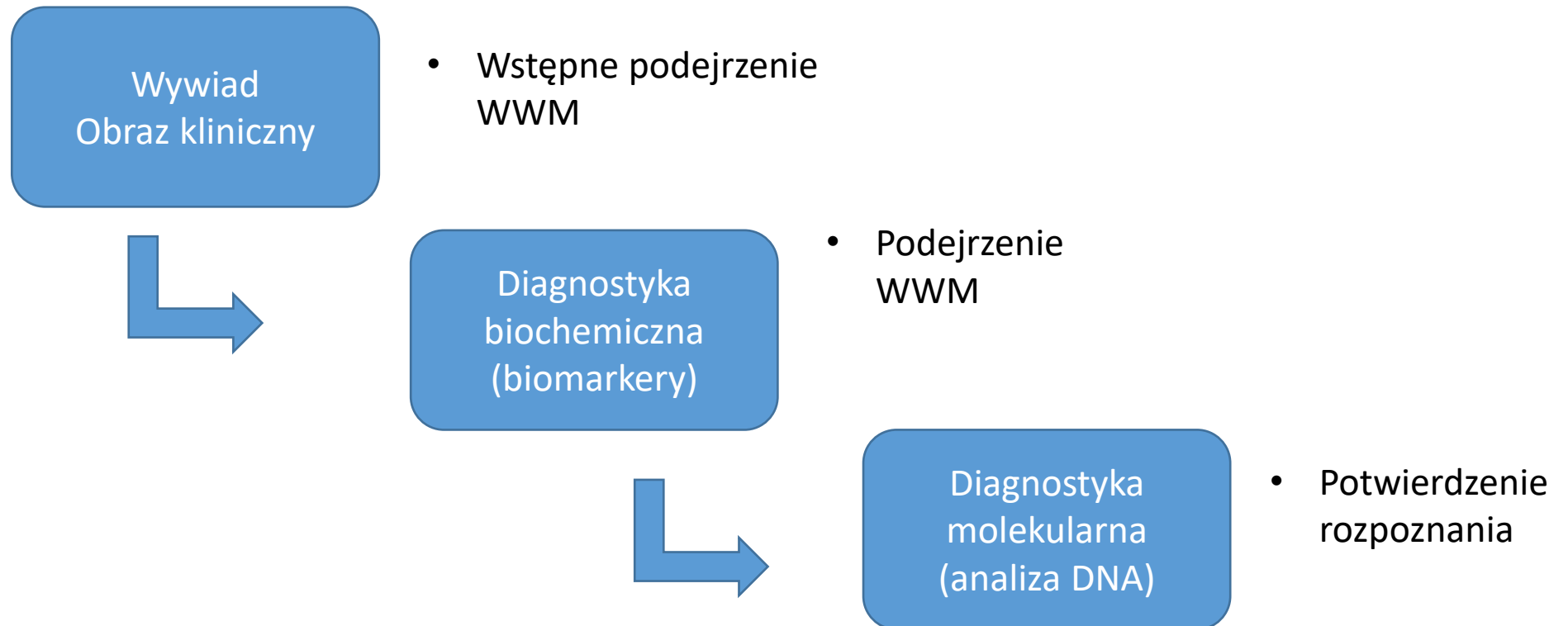
Screening populacyjny

Screening selektywny

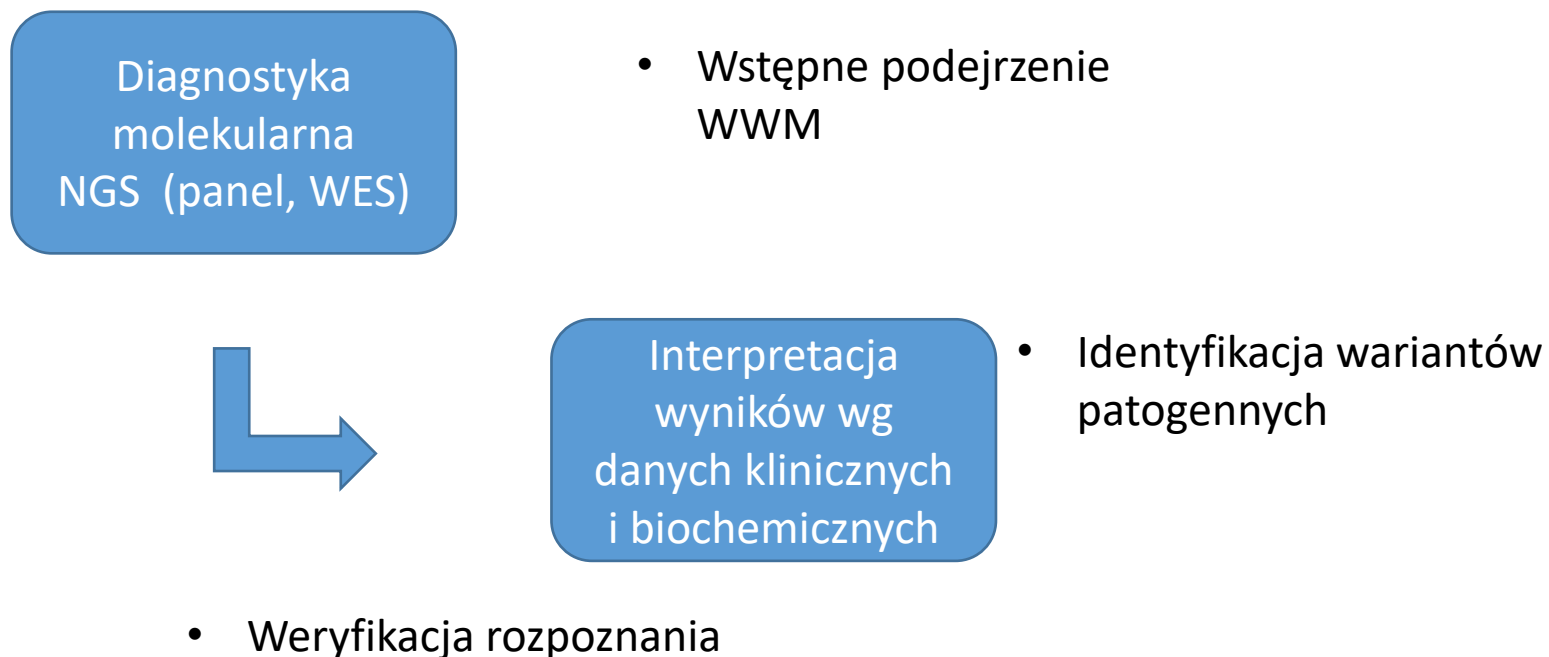
Badania przesiewowe
noworodków

Objawowy

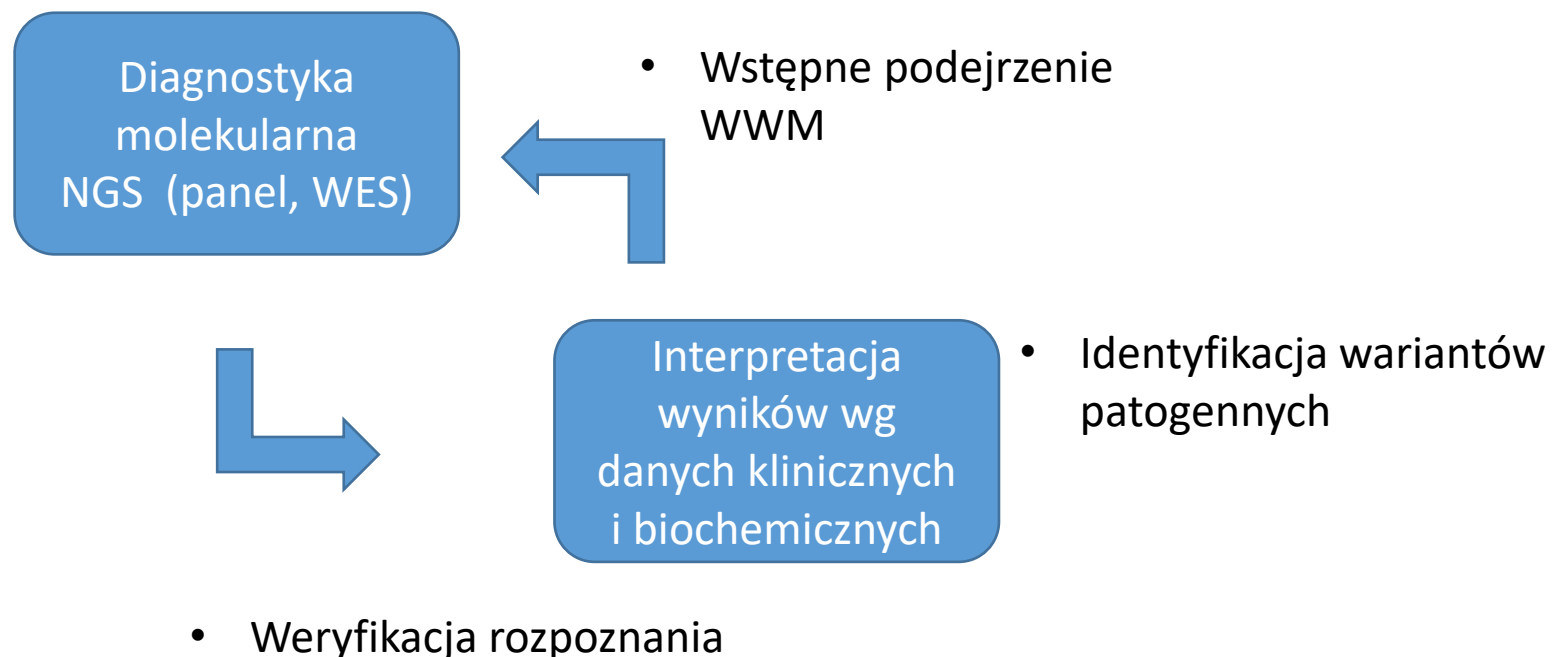
Rutynowy model procesu diagnostycznego WWM



„Nowy” model procesu diagnostycznego WWM



„Nowy” model procesu diagnostycznego WWM



Dziękuję za uwagę