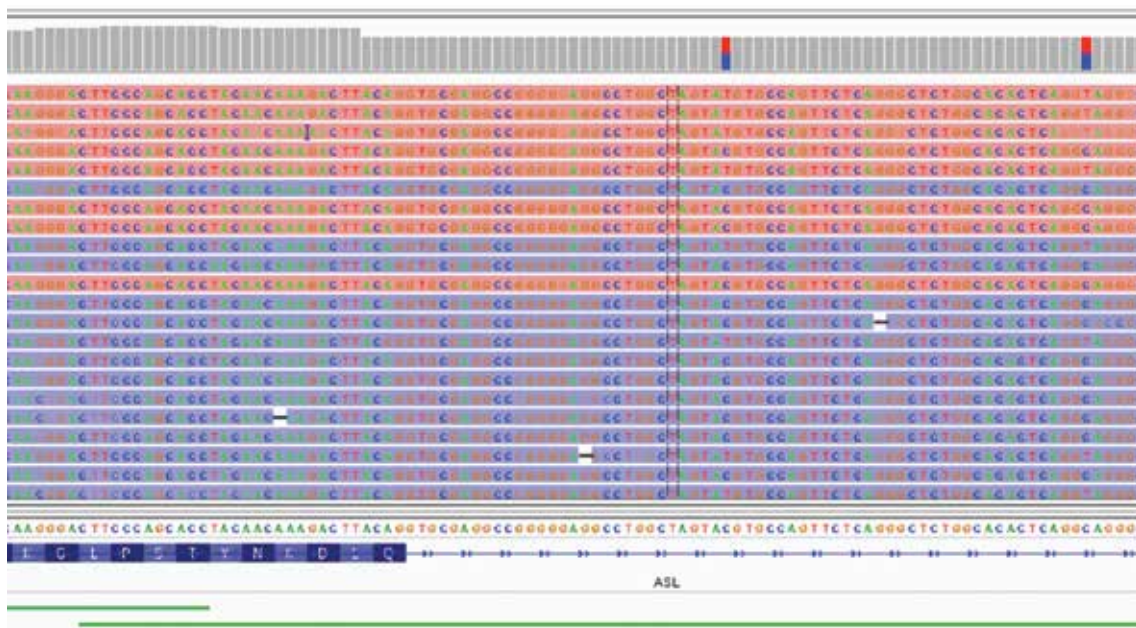


Μεταβολικά Νοσήματα

Βιοχημική
και Γενετική διερεύνηση
Μεταβολικών
Νοσημάτων



Γενετικός έλεγχος
Διαταραχών του Κύκλου
Ουρίας με αλληλούχιση DNA
επόμενης γενιάς (NGS)


NeoLab

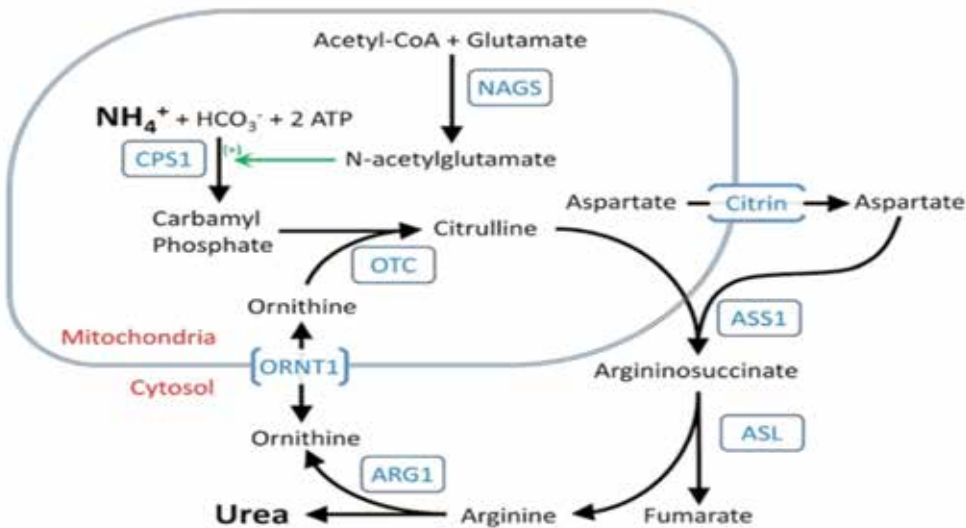
ΙΔΙΩΤΙΚΟ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Σεπτέμβριος 2017

Διαταραχές στον κύκλο Ουρίας

Ο κύκλος της ουρίας περιλαμβάνει μια σειρά διαδοχικών βιοχημικών αντιδράσεων στις οποίες η περίσσεια του αζώτου ως προϊόν αποδόμησης των πρωτεϊνών, απομακρύνεται από την κυκλοφορία του αίματος και καταλήγει στο σχηματισμό της ουρίας, η οποία αποβάλλεται από τον οργανισμό. Πρόσθετα ο κύκλος ουρίας είναι ο μόνη διαδικασία ενδογενούς παραγωγής Αργινίνης, Ορνιθίνης και Κιτροουλίνης. Ταυτόχρονα ένζυμά του μεταβολίζουν αζωτούχους μεταβολίτες (όπως την κιτροουλίνη) και επικαλύπτεται (ASS1, ASL) με το μεταβολικό μονοπάτι παραγωγής νιτρικού οξέος. Τέλος είναι το κύριο βιοχημικό μονοπάτι μεταβολισμού αζωτούχων ενώσεων όπως το AMP.

Σοβαρή ανεπάρκεια ή πλήρης απώλεια της ενεργότητας οποιουδήποτε από τα πρώτα τέσσερα ένζυμα του μονοπατιού (CPS1, OTC, ASS1, και ASL) ή του ενζύμου που παράγει τον συμπαράγοντα (NAGS) έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση αμμωνίας και άλλων πρόδρομων μεταβολιτών κατά τις πρώτες μέρες ζωής. Επειδή δεν υπάρχει εναλλακτικό σύστημα για την αποβολή της αμμωνίας, πλήρης αποδιοργάνωση του μονοπατιού έχει ως αποτέλεσμα την ταχεία συσσώρευση αμμωνίας (υπεραμμωναιμία) και την εμφάνιση σχετικών συμπτωμάτων.



Απο το urea cycle disorders : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1217/>

Γενετική βάση αντίστοιχων νοσημάτων

N-acetylglutamate synthase deficiency (NAGS deficiency) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου NAGS. Τα συμπτώματα μοιάζουν με αυτά της ανεπάρκειας CPS1, καθώς η CPS1 καθίσταται ανενεργή απουσία του N-ακετυλογλουταμικού. (Caldovic et al 2003).

Carbamoylphosphate synthetase I deficiency (CPS1 deficiency) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου CPS1 και είναι η πιο σοβαρή από τις διαταραχές του κύκλου της ουρίας. Άτομα με πλήρη ανεπάρκεια CPS1 αναπτύσσουν ταχέως υπεραμμωναιμία κατά την νεογνική περίοδο. Παιδιά που επιβιώνουν από την πρώτη κρίση είναι συνεχώς σε κίνδυνο για επανειλημμένες κρίσεις υπεραμμωναιμίας.

Ornithine transcarbamylase deficiency (OTC deficiency) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου OTC. Απουσία της OTC ενεργότητας σε άρρενα άτομα είναι εξίσου σοβαρή με την ανεπάρκεια CPS1. Περίπου 15% των θηλυκών ατόμων-φορέων παρουσιάζουν υπεραμμωναιμία κατά την διάρκεια της ζωής τους και πολλά χρειάζονται μακροχρόνια διαχείριση της υπεραμμωναιμίας. Πρόσφατα αναγνωρίστηκε ότι θηλυκά άτομα-φορείς που δεν είχαν ποτέ φανερά συμπτώματα υπεραμμωναιμίας, παρουσιάζουν ανεπάρκεια στις γνωστικές τους λειτουργίες.

Citrullinemia type I (ASS1 deficiency) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου ASS1.

Η υπεραμμωνιαμία σε αυτή την διαταραχή μπορεί επίσης να είναι πολύ σοβαρή. Τα πάσχοντα άτομα μπορούν να ενσωματώσουν ένα μέρος του προς αποβολή αζώτου σε ενδιάμεσα μόρια του κύκλου της ουρίας, κάτι το οποίο κάνει την αντιμετώπιση ελαφρώς πιο εύκολη σε σχέση με τις άλλες διαταραχές του κύκλου της ουρίας.

Argininosuccinic aciduria (ASL deficiency) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου ASL. Μπορεί επίσης να εκδηλωθεί με ταχεία εμφάνιση υπεραμμωνιαμίας κατά την νεογνική περίοδο. Αυτή η ενζυμική ανεπάρκεια συμβαίνει αφού το προς αποβολή άζωτο έχει ενσωματωθεί στον κύκλο της ουρίας. Συσσωρεύεται αργινοηλεκτρικό με συνέπειες οξυουρίας. Κάποια από τα πάσχοντα άτομα αναπτύσσουν χρόνια διόγκωση του ήπατος και αύξηση των τρανσαμινασών. Βιοψία του ήπατος δείχνει διογκωμένα ηπατοκύτταρα, κατάσταση η οποία μπορεί με το χρόνο να εξελιχθεί σε ίνωση άγνωστης αιτιολογίας. Πάσχοντα άτομα μπορούν επίσης να αναπτύξουν trichorrhexis nodosa, εμφάνιση όζων σε μαλλιά που είναι εύθραυστα, κατάσταση η οποία συνήθως ανταποκρίνεται στη χορήγηση αργινίνης. Πάσχοντα άτομα τα οποία δεν είχαν ποτέ πέσει σε παρατεταμένο κώμα έχουν αναφερθεί παρ' όλα αυτά να έχουν σημαντικές αναπτυξιακές αναπηρίες (Summar 2001, Summar & Tuchman 2001, Nagamani et al 2012).

Arginase deficiency (hyperargininemia, ARG1 deficiency) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου ARG1. Τυπικά δεν χαρακτηρίζεται από ταχεία εμφάνιση υπεραμμωνιαμίας, ωστόσο μερικά άτομα εμφανίζουν πιο σοβαρά συμπτώματα νωρίτερα (Jain-Ghai et al 2011). Τα πάσχοντα άτομα εμφανίζουν προσευτική σπαστικότητα και μπορούν ακόμα να αναπτύξουν τρόμο, αταξία και χοριοαθέτωση. Η ανάπτυξη επίσης επηρεάζεται (Cederbaum et al 2004).

Ornithine translocase deficiency (ORNT1 deficiency, hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome) οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου ORNT1(SLC25A15). Έχει ποικίλη ηλικία έναρξης (από την βρεφική ηλικία έως την ενήλικη ζωή). Τα κλινικά συμπτώματα μπορεί να είναι χρόνιες νευρογνωστικές ανεπάρκειες, κρίσεις υπεραμμωνιαμίας, ή χρόνια ηπατική δυσλειτουργία.

Citrin deficiency οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου SLC25A13. Μπορεί να εκδηλωθεί σε νεογνά ως νεογνική ενδοηπατική χολόσταση λόγω ανεπάρκειας citrin (NICCD), σε μεγαλύτερα παιδιά ως αδυναμία ανάπτυξης και δυσλιπιδαιμία λόγω ανεπάρκειας citrin (FTTDCD) και σε ενήλικες ως επαναλαμβανόμενη υπεραμμωνιαμία με νευροψυχιατρικά συμπτώματα στην κίτρουλλιναιμία τύπου II (CTLN2).

Πώς κληρονομούνται

Οι διαταραχές του κύκλου της ουρίας που οφείλονται σε μεταλλάξεις των γονιδίων NAGS, CPS1, ASS1, ASL, ARG1, SLC25A13(citrin) και SLC25A15(ORNT1) **κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο**, ήτοι χρειάζονται δύο αντίγραφα του αντίστοιχου γονιδίου να φέρουν μεταλλάξεις για να εκδηλωθούν συμπτώματα. **Η ανεπάρκεια OTC κληρονομείται με το φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τύπο** με τα ετερόζυγα θηλυκά άτομα που φέρουν μεταλλάξεις του OTC να είναι φορείς και τα ημίζυγα άρρενα άτομα να πάσχουν.

Γενετικός έλεγχος διαταραχών του κύκλου της ουρίας στην Neolab

Ο Γενετικός έλεγχος των γονιδίων που ενέχονται άμεσα στις διαταραχές του κύκλου της ουρίας περιλαμβάνει τα γονίδια *NAGS, CPS1, OTC, ASS1, ASL, ARG1, SLC25A13, και SLC25A15*

Η μεθοδολογία της NGS που εφαρμόζουμε αποτελεί την πιο σύγχρονη μέθοδο ανάλυσης του DNA, επιτρέποντας την ταυτόχρονη αλληλούχιση γονιδιακών περιοχών. Σχεδιάσαμε με ειδικά βιοπληροφορικά μέσα και αναλύουμε τις γονιδιακές περιοχές των γονιδίων ***NAGS, CPS1, OTC, ASS1, ASL, ARG1, SLC25A13, και SLC25A15*** ώστε να ανιχνεύονται τόσο οι γνωστές μεταλλάξεις όσο και οι άγνωστες.

Η γενική τακτική μας στην αναλυτική μελέτη των γονιδίων περιλαμβάνει:

- α)** τις κωδικοποιούσες περιοχές τους,
- β)** τις περιοχές ματίσματος των εξωνίων (εσωνικές περιοχές),
- γ)** τις 5' και 3' μη μεταφραζόμενες περιοχές τους και
- δ)** τις εσωνικές περιοχές που έχουν καταγραφεί μεταλλάξεις.

Πίνακας: Γονίδια που περιλαμβάνονται στον έλεγχο των διαταραχών του κύκλου της ουρίας.

ΝΟΣΗΜΑ/ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ	ΓΟΝΙΔΙΟ	ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΤΟΠΟΣ	ΤΡΟΠΟΣ ΚΛΗΡΟΝΟΜΗΣΗΣ
ORNITHINE TRANSCARBAMYLASE DEFICIENCY (OMIM # 311250)	OTC (OMIM * 300461)	Xp11.4	ΦΥΛΟΣΥΝΔΕΤΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
CARBAAMOYL PHOSPHATE SYNTHETASE I DEFICIENCY (OMIM # 237300)	CPS1 (OMIM + 608307)	2q34	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
N-ACETYLGLUTAMATE SYNTHETASE DEFICIENCY (OMIM # 237310)	NAGS (OMIM * 608300)	17q21.31	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
CITRULLINEMIA, TYPE I, ARGININOSUCCINATE SYNTHETASE DEFICIENCY (OMIM # 215700)	ASS1 (OMIM * 603470)	9q34.11	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
ARGININOSUCCINIC ACIDURIA, ARGININOSUCCINATE LYASE DEFICIENCY (OMIM # 207900)	ASL (OMIM * 608310)	7q11.21	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
ARGININEMIA, ARGINASE DEFICIENCY (OMIM # 207800)	ARG1 (OMIM * 608313)	6q23.2	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
CITRULLINEMIA TYPE II ADULT AND NEONATAL-ONSET, CITRIN DEFICIENCY (OMIM # 603471, # 605814)	SLC25A13 (OMIM * 603859)	7q21.3	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ
HYPERORNITHINEMIA-HYPERAMMONEMIA-HOMOCITRULLINURIA SYNDROME,ORNITHINE TRANSLOCASE DEFICIENCY (OMIM # 238970)	SLC25A15 (OMIM * 603861)	13q14.11	ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΣ

Τα αποτελέσματά μας ελέγχονται όσο αφορά την ταυτότητά τους με τις διεθνείς και την δική μας βάση δεδομένων, ελέγχονται για την άμεση ή έμμεση λειτουργική τους επίπτωση και βεβαίως συσχετίζονται με τα βιοχημικά και κλινικά ή φαινοτυπικά ευρήματα που έχουν διαπιστωθεί. Το τελικό αποτέλεσμα εκδίδεται μετά από έλεγχο ποιότητας, αποτυπώνοντας τα παραπάνω ευρήματα, αλλά και την αξιολόγηση/ερμηνεία τους. Περαιτέρω διερεύνηση κάθε περιστατικού είναι εφικτή μέσω της συνολικής αλληλούχησης του γονιδίου.

Η γενετική ταυτοποίηση της γενετικής βάσης των διαταραχών του κύκλου της ουρίας

α) θα επιτρέψει την ολοκλήρωση/πιστοποίηση της διαγνωστικής διερεύνησης, β) θα συμβάλει στην καλύτερη πρόγνωση της πορείας του νοσήματος, γ) θα επιτρέψει πιθανά την τροποποίηση/επιλογή εξειδικευμένου θεραπευτικού πρωτοκόλλου, δ) θα προσφέρει τη δυνατότητα του εστιασμένου ελέγχου μελών της οικογένειας, ε) θα παρέχει τη δυνατότητα προγνωστικού προγεννητικού ελέγχου.

Η εταιρεία μας γνωρίζοντας καλώς ότι ο διάλογος με τους συνεργάτες μας είναι μείζονος σημασίας, είναι ανοικτή σε συνεργασίες διερεύνησης γονιδιακών ή μη περιοχών ή δημιουργία νέων panels που σχετίζονται με παθολογικές ή μη καταστάσεις ενδιαφέροντος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ah Mew N, Simpson KL, Gropman AL, Lanpher BC, Chapman KA, Summar ML. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Ledbetter N, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
2. Caldovic L, Morizono H, Panglao MG, Cheng SF, Packman S, Tuchman M. Null mutations in the N-acetylglutamate synthase gene associated with acute neonatal disease and hyperammonemia. Hum Genet. 2003;112:364–8.
3. Summar M. Current strategies for the management of neonatal urea cycle disorders. J Pediatr. 2001;138:S30–9 .
4. Summar M, Tuchman M. Proceedings of a consensus conference for the management of patients with urea cycle disorders. J Pediatr. 2001;138:S6–10.
5. Nagamani SC, Campeau PM, Shchelochkov OA, Premkumar MH, Guse K, Brunetti-Pierri N, Chen Y, Sun Q, Tang Y, Palmer D, Reddy AK, Li L, Slesnick TC, Feig DI, Caudle S, Harrison D, Salviati L, Marini JC, Bryan NS, Erez A, Lee B. Nitric-oxide supplementation for treatment of long-term complications in argininosuccinic aciduria. Am J Hum Genet. 2012;90:836–46.
6. Cederbaum SD, Yu H, Grody WW, Kern RM, Yoo P, Iyer RK. Arginases I and II: do their functions overlap? Mol Genet Metab. 2004;81:S38–44.

Εικόνα εξώφυλλου: Οπτικοποίηση της αλληλούχησης DNA σε σύγκριση με το φυσιολογικό γονιδίωμα με χαρακτηριστικό το μέγεθος του πολλαπλασιασμού και αλληλούχησης (γκρίζα οριζόντια ζώνη) όπου περιλαμβάνονται δύο νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις (μπλέ/κόκκινο χρώμα).

Αλληλούχηση DNA Επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS): Αποτελεί την πλέον σύγχρονη μέθοδο ανάλυσης του γενετικού υλικού, επιτρέποντας τη μαζική, ταυτόχρονη και αξιόπιστη ανάλυση γονιδίων ή/και ολόκληρου του γονιδιώματος σε ελάχιστο χρόνο.

Για την πραγματοποίηση του ελέγχου της, αρκεί δείγμα αίματος 1ml σε EDTA (φιαλίδιο Γενικής Αίματος), ενώ ο χρόνος απάντησης είναι 10-15 ημέρες.