

V současné době je známo více než 1000 typů dědičných poruch metabolismu (DPM). Tvoří asi 15% tzv. vzácných onemocnění. Jako vzácná onemocnění jsou definována onemocnění s výskytem nižším než 1:2000 živě narozených dětí. DPM se mohou manifestovat v kterémkoliv věku. Diagnostika a terapie DPM je složitý proces, který vyžaduje multioborovou spolupráci a diagnostickou zkušenost. Proto je vždy koncentrována do tzv. metabolických center.

Skupiny nejčastějších DPM - tabulka

Rozdělení DPM

1. dle patofyziologie
 - a) poruchy komplexních molekul, např. poruchy lysozomální
 - b) akutní intoxikační typ, např. organické acidurie
 - c) poruchy energetického metabolismu, např. poruchy beta-oxidace mastných kyselin

2. dle věku při manifestaci a klinických projevů
 - a) onemocnění s akutním začátkem v novorozeneckém a kojeneckém věku
 - b) pozdní infantilní typ s rekurentními stavy akutního zhoršení
 - c) chronický progresivní typ
 - d) onemocnění se specifickými orgánovými příznaky

3. rozdělení v klinické praxi
 - a) nemoci malých molekul < 1500 Da
 - b) nemoci komplexních molekul >1500 Da

Nemoci malých molekul jsou obvykle způsobeny poruchami metabolismu látek přiváděných stravou. Nejčastěji se manifestují již v novorozeneckém věku či jako opakované stavy metabolického rozvratu. Bývají často spojeny s hyperamonémií a hypoglykemií.

Nemoci komplexních molekul tvoří poruchy tvorby, transportu nebo odbourávání endogenně syntetizovaných složitých makromolekul. Dochází k abnormalitám buněčných membrán a organel, zvláště lysozomů a peroxizomů. Neodbourané molekuly se hromadí, což vede ke strukturálnímu poškození orgánů, dysmorfii, organomegálií a poškození centrálního nervového systému. Nejsou závislé na podnětech zvenčí.

Pro většinu DPM platí mendelovský typ dědičnosti. Porucha-patogenní sekvenční varianta- je uložena v jaderné DNA. Nejčastěji se dědí autosomálně recesivně. Rodiče jsou nosiči vloh (heterozygoti) pro určité onemocnění. Pro každé těhotenství takových rodičů platí riziko 25%, že jejich dítě může být postiženo danou poruchou.

Pro tzv. mitochondriální poruchy platí maternální typ dědičnosti, tj. preferenční přenos vloh na potomky od matky. Porucha - patogenní sekvenční varianta- je uložena v mitochondriální DNA, ale i jaderné DNA.

Příznaky DPM

Anamnéza

V anamnéze postiženého probanda se častěji setkáváme s výskytem příbuzenských sňatků, což zvyšuje 10x riziko výskytu DPM. V rodu probanda se vyskytují příbuzní s nevysvětlenou poruchou, např. charakteru sepse, syndromu náhlého úmrtí kojence (SIDS), encefalopatie, metabolického rozvratu a podobně. Děti neprospívají a mohou trpět opakovanými nevysvětlenými infekcemi.

V rodině se vyskytují členové s nejasným familiárním progresivním neurologickým postižením: dítě nedosahuje milníků psychomotorického vývoje, má poruchy svalového tonu, křeče, ataxii či dystonii. Opomíjeny jsou psychiatrické příznaky DPM, tj. úzkost, deprese, poruchy spánku, neurózy. Často můžeme pozorovat opakované spontánní potraty či infertilitu. Důležitým anamnestickým údajem je, že v populaci není na chorobu screening. K první manifestaci DPM může dojít také až v dospělosti.

Mnoho DPM se manifestuje při tzv. metabolické dekompenzaci. Nejčastěji v souvislosti s hladověním (infekce, horečka, očkování, operace, úraz). Dalšími příčinami mohou být vysoké dávky proteinů nebo naopak jejich deficit ve stravě, stejně jako vysoký přívod sacharidů nebo jejich zrychlené vstřebávání. Dekompenzace může nastat při zavedení mateřského mléka do stravy novorozence, stejně jako ovoce do kojenecké stravy. Metabolický rozvrat může být spojen s vysokou dávkou tuků, užíváním léků a drog.

Pacienti s DPM mohou mít zvláštní vzhled obličeje (stigmatizaci). Obličej může mít hrubé rysy, bývá atypický tvar ušních boltců, široký kořen nosu, cibulovitý nos, vysoké čelo, široce otevřená velká fontanela a abnormální postavení očních štěrbin. Postižení mohou trpět kostními deformitami. Mohou mít atypickou distribuci tuku na těle, invertované bradavky, kožní xantomy, anomálie genitálu, změny na očním pozadí, kataraktu, dislokaci oční čočky, organomegálii, známky kardiomyopatie, myopatii, různé vrozené vývojové vady, psychomotorickou retardaci, regres ve vývoji, poruchy svalového tonu, křeče, farmakorezistentní epilepsii a další příznaky. Vzácně se může objevit uro či nefrolitiáza. U některých neléčených probandů s DPM je popisován typický zápach moči a potu (např. u pacientů s fenylketonurií (PKU) zápach po myšíně, u pacientů s hereditární tyrozinémií typ 1 zelný zápach).

Diagnostika DPM

Diagnostika je spojena se základním biochemickým vyšetřením. Mezi tato vyšetření patří krevní obraz, stanovení glykémie, bilirubinu, alkalické fosfatázy a jaterních transamináz, amoniaku ze žilní krve, laktátu, kreatinkinázy a myoglobinu v krvi, kyseliny močové, alfa-fetoproteinu, mědi a ceruloplasminu, lipidový profil, koagulační vyšetření, acidobazická rovnováha a krevní plyny, moč chemicky a sediment. V indikovaných případech je důležitý i nález v likvoru.

U pacientů s vysokým podezřením na DPM následuje tzv. selektivní screening. Vyšetření provádí specializovaná metabolická centra. Jedná se např. o vyšetření aminokyselin v séru a v moči, vyšetření acylkarnitinů v krvi, vyšetření organických kyselin v moči, lysozomální studie-vyšetření glykosaminoglykánů a oligosacharidů v moči, různé funkční testy (metabolické profilování) a další vyšetření.

S výhodou se využívají také pomocné vyšetřovací metody - RTG, UZ, NMR, NMR spektroskopie. Stále významná je histologická diagnostika. Provádí se kožní biopsie a kultivace fibroblastů pro enzymologické vyšetření. Definitivní potvrzení DPM přinášejí metody DNA diagnostiky.

Terapie DPM

Terapie dědičných poruch metabolismu je v určitých případech možná. U mnohých z nich však kauzální léčba neexistuje.

1. speciální dieta s vyloučením škodlivé látky nebo podání náhradního substrátu a využití potravin pro zvláštní lékařské účely. Příklad: směsi aminokyselin bez fenylalaninu pro léčbu pacientů s PKU při nízkobílkovinné dietě.
2. podávání speciálních farmak a vitamínů. Příklad: NTBC (Nitisinon, Orfadin) při hereditární tyrozinémii typ 1. Jedná se o 2-(nitro-4-trifluormethyl-benzoyl)-1,3-cyclohexandion, inhibitor 4-OH-fenylpyruvát-dioxygenázy, který blokuje tvorbu toxických metabolitů, tj. succinylacetonu. Dále např. zinek acetát, antagonist a mědi, při Wilsonově chorobě.
3. využití tzv. malých molekul „chaperonů“, které zvyšují reziduální aktivitu daného deficitního enzymu např. PKU, Gaucherova choroba, Fabryho choroba.
4. enzymová substituční (náhradní) terapie (ERT). Je založena na pravidelném intravenózním podávání specifických enzymů, které se vyrábí pomocí DNA rekombinantních technologií. Purifikovaný enzym vstupuje do buněčných lysozomů, ve kterých jsou nahromaděny specifické substráty, které se účinkem enzymu katabolizují. Prvním léčeným onemocněním byla Gaucherova choroba. V současnosti se jedná i o další lysozomální onemocnění (např. mukopolysacharodózy-MPS).
5. substrát redukující terapie (SRT). Cílem SRT je redukovat syntézu substrátů, které nejsou v buňkách adekvátně zpracovány s cílem snížit množství takového substrátu v buňce. Příklad: choroba Niemann-Pick.

Moderní terapie (advanced therapy)

6. genová terapie – je léčebný postup, při kterém je do genomu pacienta vložena sekvence DNA, která kóduje chybějící či nefungující protein. Příklad: deficit lipoproteinové lipázy (LPL), Glybera.
7. antisense oligonucleotide RNA therapy – pokud víme, že určitá část nukleotidové sekvence určitého genu způsobuje určité onemocnění, je možné vytvořit sekvenci nukleotidů (DNA, RNA nebo chemický analog), který pomocí mRNA „vypne“ postiženou část genu. Tato sekvence nukleotidů se nazývá „antisense“ oligonucleotide (ASO), neboť její sekvence bazí je komplementární k genové mRNA, kterou nazýváme „sense“ sekvencí. Příklad: mipomersen (Kynamro) k léčbě familiální hypercholesterolemie (FAH).
8. transplantace tkání, orgánů, kmenových buněk. Hematopoietic stem cell therapy (transplantation) – HSCT – jedná se o transplantaci multipotentních hematopoietických kmenových buněk (většinou z kostní dřeně, periferní krve či pupečnickové krve). Může být autologní (pacientovi zárodečné buňky) nebo alogenní (využití dárcovských buněk) či synergické (od identických dvojčat). U DPM se nyní jedná o HSCT při MPS a adrenoleukodystrofii.
9. regenerative medicine – využití nanotechnologie v medicíně

Nejčastěji uváděným příkladem dědičné poruchy metabolismu bývá vrozená porucha látkové výměny aminokyseliny fenylalaninu (Phe), tj. PKU. Je způsobena deficitem enzymu fenylalaninhydroxylázy (PAH), který je lokalizován v játrech (E.C.1.14.16.1). Gen je uložen na chromozomu 12 (oblast 12q22-24.1). V databázi „BIOPKU database“ je popsáno více než

1000 patogenních sekvenčních variant (dříve mutací) *PAH* genu. Porucha se dědí autosomálně recesivně. Předpokládaná incidence činí v evropské populaci 1:10 000 živě narozených dětí, v České republice 1: 5250 živě narozených dětí. Defekt PAH způsobuje zvýšení koncentrace fenylalaninu v krvi, tkáních a orgánech. Při neléčené PKU dochází k těžkému postižení centrálního nervového systému.

K léčbě byla v roce 1954 zavedena nízkobílkovinná dieta s nízkým obsahem Phe ve stravě. Dieta je složena ze směsi aminokyselin bez Phe (tzv. potraviny pro zvláštní lékařské účely), malého množství přirozených bílkovin a z tzv. nízkobílkovinných výrobků. Časná postnatální, dostatečně intenzivní a dlouhodobá (celoživotní) dieta s nízkým obsahem Phe ve stravě umožňuje normální či téměř normální vývoj kognitivních funkcí. Neléčení pacienti jsou charakterizováni ireverzibilním mentálním postižením, mikrocefálií, křečemi, poruchami chování, psychiatrickými příznaky, poruchami motoriky, poruchami spánku a ekzémem. V graviditě má zvýšená hodnota Phe v krvi matky teratogenní účinek na plod. Tzv. syndrom maternální PKU zahrnuje nejčastěji mentální retardaci, vrozené srdeční vady, mikrocefálii, stigmatizaci plodu, nízkou porodní hmotnost, poruchu pozornosti a hyperaktivitu (ADHD) či riziko potratu nebo předčasného porodu.

Někteří pacienti, dobře reagují na podání tetrahydrobiopterinu (BH4), který je přirozeným kofaktorem PAH a který působí jako farmakologický „chaperone“. BH4 zvyšuje termální stabilitu a ochranu proti proteolytické degradaci a oxidační inaktivaci mutovaného proteinu, což vede ke snížení hladiny Phe v krvi a zvýšení tolerance Phe ve stravě.

V některých zemích se k léčbě používají i neutrální aminokyseliny s dlouhým řetězcem (LNAA) nebo glykomakropeptid (GMP).

Novou léčebnou možností je enzymová substituční terapie. Jedná se o použití rekombinantního enzymu fenylalaninamoniaklyázy (PAL), která štěpí fenylalanin na kyselinu trans-skořicovou a malé množství amoniaku, které není pro organismus toxické. Subkutánní podání enzymu Pegvaliasa® (rAV-PEG-PAL) v jedné denní dávce snižuje hodnoty Phe v krvi. V současnosti je léčba vyhrazena pro pacienty s PKU od 16 let věku. Cílem léčby je snížení hodnoty Phe v krvi k doporučeným hodnotám dle věku, navýšení přirozených bílkovin ve stravě na množství běžné ve zdravé populaci a postupné vysazení PZLÚ k léčbě PKU/HPA.

Obrázek 1

Pacient s dědičnou poruchou glykosylace (PMM2-CDG, dříve CDG1a): mikrocefálie, prominující čelo, úzké oční štěrby, široký kořen nosu, úzký horní ret.

Obrázek 2

Pacient s poruchou biosyntézy sterolu (Smith Lemli Opitz syndrom): trojúhelníkový obličej, cibulovitý nos, malá brada, úzký horní ret, strabismus, nížce posazené ušní boltce.

Populační screening

Populace představuje skupinu jedinců stejného druhu se společným genofondem, který obývá určitou oblast. Jedinci se mohou mezi sebou vzájemně křížit. Jedinci pochází ze stejného předka.

Druhy populací

Autogamická populace je tvořena jedinci, kteří se rozmnožují samooplozením, autogamií. Každý jedinec nese samčí i samičí gamety.

Alogamická populace je tvořena jedinci, kteří vznikají spojením 2 gamet od různých jedinců téhož druhu.

Panmiktická populace je ideálním případem alogamické populace. V této ideální, tj. nekonečně velké populaci, musí být zaručena stejná pravděpodobnost zkřížení jakýchkoli 2 jedinců v populaci.

Hardyho-Weinbergův (HW) zákon (nebo také rovnováha) je teoretické rovnovážné rozložení alel v populaci. Na základě HW zákona můžeme vypočítat genotypovou variabilitu panmiktické populace. Zákon platí za těchto podmínek:

populace musí být panmiktická a velmi početná

nedochází k mutacím (u sledovaného genu)

nedochází k selekci

nedochází k migraci

Vlivy působící na genofond populace

Mutační tlak

Může docházet ke vzniku zcela nových alel nebo změně dominantní alely na recesivní i naopak. Taková alela může být pro jedince nevýhodná, neutrální nebo i výhodná. Četnost těchto jevů je v populaci nízká.

Selekční tlak

Selekce neboli přírodní výběr má velký vliv. Pokud alela svého nositele v populaci zvýhodňuje, pak bude frekvence této alely v následujících generacích postupně stoupat. Nevýhodné alely z populace postupně ubývají, tzv. negativní selekce. Ale úplně nevymizí nikdy. Veličina **fitness-w** vypovídá, jakou mírou přispívají jedinci s výhodným či nevýhodným genotypem do genofondu populace, tj. kolik mají procent potomků oproti jedincům s jinými genotypy. Míru vlastní selekce proti určitému genotypu charakterizuje **koeficient selekce-s**.

Migrace

Jedná se o obohacení genofondu o nové alely, ale též o jeho ochuzení. Je nezbytná pro výměnu genů, tzv. genový tok. V izolované populaci (populačním izolátu) se můžeme setkat s tzv. **efektem zakladatele (founder effect)**. V tomto případě některý jedinec ze zakládající populace předá do dalších generací relativně vzácnou alelu, která se pak v dané populaci rozšíří natolik, že je její frekvence výrazně vyšší než v jiných částech populace.

Genetický drift (posun)

Jedná se o náhodný posun ve frekvenci jednotlivých alel v populaci. Prakticky to znamená, že změny frekvence nepodléhají selekci, ale závisí na náhodě při vzniku gamet a zygot. Genetický posun se uplatňuje v malých populacích.

Screening je v medicíně definován jako cílené (aktivní) vyšetřování nemocí v době, kdy nejsou přítomny žádné příznaky nebo známky choroby. Má významnou roli v preventivním lékařství a je důležitou součástí lékařského vyšetření.

Cílený, selektivní screening se provádí v případech, kde existuje evidentní riziko, že určitý jedinec může být postižen určitou chorobou.

Wilson-Jungnerova kritéria pro screening choroby v populaci

1. vyšetřovaná choroba je jasně definována.
2. vyšetřovaná choroba představuje zdravotně sociální problém, je častá.
3. včasná diagnóza umožňuje takovou léčbu, která zásadně pozitivně ovlivní průběh nemoci.
4. k vyhledávání choroby v populaci existuje obecně uznávaný screeningový test.
5. screeningový test je věrohodný, má přesně definované krajní hodnoty, což zabrání falešně pozitivním či negativním výsledkům testu.
6. opakované provádění screeningového testu, re-call, představuje zátěž zdravé populace.
7. společnost je schopna zabezpečit NS a následnou péči o zachycené pacienty po stránce organizační a ekonomické.
8. Náklady diagnostiky a léčby musí být v systému zdravotní péče ekonomicky vyvážené. Přínos screeningu musí být pozitivní, pokud srovnáváme jeho náklady a výsledky (benefit/cost). Jedná se o kontinuální proces, jehož efektivita musí být trvale vyhodnocována.

Na druhé straně s rozvojem technologií a nárůstem možností počtu diagnostikovatelných chorob vznikají diskuze, zda tyto choroby patří do screeningových programů. Objevují se nové etické otázky. Situace vede k zamyšlení, zda by původní kritéria neměla být revidována.

Genetický screening je součástí programů zdravotní péče. Původně se jednalo o záchyt novorozenců s geneticky podmíněnou chorobou, která je léčitelná v případě včasné diagnózy, např. fenylketonurie. Hlavní úlohou genetického screeningu je zlepšit zdraví společnosti.

Novorozenecký screening (NS)

NS je proces testování novorozenců, kteří mají zvýšené riziko pro vzácné onemocnění, jehož včasný záchyt a léčba mohou zabránit vážnému postižení dítěte. Provádí se aktivně a celoplošně (tj. celostátně) v novorozenecké populaci. Pod pojem novorozenecký screening lze v širším slova smyslu zahrnout i klinické vyšetření dětským lékařem při pátrání po vrozených vývojových vadách či vrozených infekcích, vyšetření ortopedem k vyhledávání vrozené poruchy vývoje kyčlí, vyšetření očním lékařem při vyhledávání katarakty, vyšetření sluchu při vyhledávání vrozené hluchoty či ultrazvukové vyšetření ledvin k časnému záchytu vrozených vývojových vad močového ústrojí.

V užším slova smyslu se novorozeneckým screeningem rozumí novorozenecký laboratorní screening (NLS), který spočívá v diagnostice onemocnění na základě stanovení koncentrace specifických látek v suché krevní kapce na filtračním papírku (tzv. novorozenecké screeningové kartičce), která je odebírána všem novorozencům na území státu.

NS byl zaveden v 60. letech minulého století prof. Robertem Guthriem v USA k vyhledávání pacientů s PKU. Jednalo se o bakteriální inhibiční test s *Bacillus subtilis*. Později byl NS rozšířen o další nemoci.

V polovině 90. let byla pro detekci DPM zavedena vyšetřovací metoda tandemové hmotnostní spektrometrie (MS-MS), k identifikaci patologických metabolitů-acylkarnitinů, aminokyselin a dalších metabolitů. Vznikl tzv. rozšířený novorozenecký laboratorní screening.

Dosud neexistuje konsensus o tom, které metabolity (resp. nemoci) mají být vyšetřovány. V USA je NLS více expanzivní a v EU více restriktivní. V rámci NLS existují doporučení-guide-lines pro další potvrzení diagnózy a sledování pacienta v případě pozitivního screeningu.

Praktické provedení NLS

Za 48-72 hodin pro narození se odebere novorozenci krev z patičky na novorozeneckou screeningovou kartičku, která je doplněna demografickými údaji o matce a novorozenci. Odběr se provádí tzv. metodou suché krevní kapky. Suchá kartička je zaslána do screeningové laboratoře. Přístroje detekují patologické metabolity, nikoliv choroby. Pokud je v rámci NS výsledek pozitivní, kontaktuje laboratoř příslušné pracoviště, které přebírá novorozence do další péče. Negativní výsledek NS novorozence se lékařům a rodičům nehlásí. V určitých případech, které jsou spojeny s výskytem nejasného nálezu, se provádí opakované vyšetření, tzv. re-call. Od re-call je třeba odlišit rescreeing. Jedná se o plánovaný a závazný druhý screening, který se provádí bez ohledu na výsledek prvního screeningu. Jedná se např. o opakování u novorozenců s nízkou porodní hmotností či jinými patologiemi v novorozeneckém období s cílem ujistit se o negativitě vyšetření. V České republice je postup legislativně ukotven v Metodickém návodu k zajištění novorozeneckého a laboratorního screeningu a následné péče Ministerstva zdravotnictví České republiky, v tzv. Věstníku, který se pravidelně aktualizuje. Jeho nedodržení je považováno za postup „non lege artis“. Další informace jsou dostupné na www.novorozeneckyscreening.cz.

Onemocnění, která jsou v současnosti zahrnuta do NLS v České republice:

endokrinní onemocnění:

vrozená snížená funkce štítné žlázy - kongenitální hypotyreóza (CH)

vrozená nedostatečnost tvorby hormonů v nadledvinách - kongenitální adrenální hyperplazie (CAH), deficit 21-hydroxylázy (*CYP21A2* gen, 6p21.3)

dědičné poruchy metabolismu:

vrozená porucha látkové výměny aminokyseliny fenylalaninu - fenylketonurie (PKU) a hyperfenylalaninemie (HPA) (*PAH* gen, 12q24.1)

vrozená porucha látkové výměny větvených aminokyselin- leucinóza (nemoc javorového sirupu, MSUD) (*DBT* gen, 1p21.2; *BCKDHB* gen, 6q14.1; *BCKDHA* gen, 19q13.2; *DLDD* gen, 7q31)

vrozená porucha látkové výměny homocysteinu – homocystinurie z deficitu cystationin beta-syntázy (CBS) (*CBS* gen, 21q22.3), homocystinurie z deficitu methylenetrahydrofolátreduktázy (MTHFR) (*MTHFR* gen, 1p36.3)

poruchy cyklu močovinny –argininemie (ARG) (*ARG* gen, 6q23), citrulinemie 1. typu (CIT) (*ASS1* gen, 9q34.11)

dědičné poruchy metabolismu látkové výměny mastných kyselin:

deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (MCAD) (*ACADM* gen, 1p31)

deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LCHAD) (*HADHA* gen, 2p23.3)

deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLCAD) (*ACADVL* gen, 17p13)

deficit karnitinpalmitoyltransferázy I (CPT I) (*CPT1A* gen, 11q13.1-13.5)

deficit karnitinpalmitoyltransferázy II (CPT II) (*CPT2* gen, 1q32)

deficit karnitinacylkarnitintranslokázy (CACT) (*SLC25A20* gen, 3p21.31)

organické acidurie

glutarová acidurie typ I (GA I) (*GCDH* gen, 19p13.2)

izovalerová acidurie (IVA) (*IVD* gen, 15q15.1)

dědičná porucha přeměny vitamínů

deficit biotinidasy (BTD) (*BTD* gen, 3p25)

jiná onemocnění:

vrozená porucha tvorby hlenu - cystická fibróza (CF) (*CFTR* gen, 7q31.2)

Screening heterozygotů v populaci

Důvodem je výrazný výskyt choroby ve specifické populační skupině. K detekci choroby musí být dostupný vhodný test. Existuje možnost prenatální, resp. preimplantační diagnostiky. Příklady:

- a) cystická fibróza
- b) Tay –Sachsova choroba (DPM - neurolipidóza) v židovské populaci Aškenázy
- c) vyšetření celkového cholesterolu v rodinách s výskytem familiální hypercholesterolemie (FAH) v rámci preventivních prohlídek u praktických lékařů pro děti a dorost (PLDD)

Obrázek 3

Odběr krve z patičky novorozence. Místa odběru jsou vyznačena černě.

Obrázek 4

Novorozenecká screeningová kartička.