



Analýza u amyloidóz, hereditárních amyloidóz



www.fno.cz



Obsah přednášky

Hereditární amyloidózy

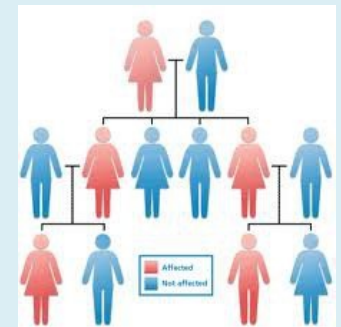
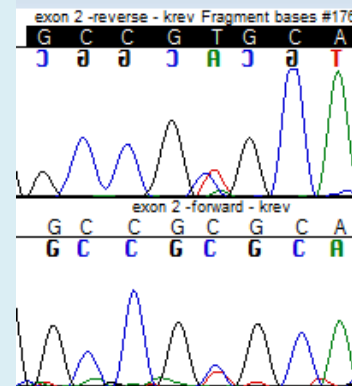
- hereditární amyloidózy
- proteiny akutní fáze



AL amyloidóza

<http://marketingland.com/library/channel/content-marketing>

Hereditární amyloidózy



Zdroj:<http://www.amyloidosismutations.com/>

Hereditární amyloidózy

- Vyšetřeno 33 vzorků (duben 2013 – 2015)
- Ostrava - 27, Brno - 2, Olomouc – 4
- 29 ATTR, 3 AFIB
- Poz. – ATTR 1, AFIB 2
- Kompletní set genů (7)
- Izolace ze suché kapky krve



Zdroj: <http://www.gendna.net/fta/>

Amyloidogenní prekurzorové proteiny

7 základních genů (Comitte of ISA)

Název proteinu	Název v genu	Poloha v genomu	Velikost (bp)	Počet mutací	Dědičnost	Postižení srdce
<u>Transthyretin</u>	TTR	chr18	7,257	125 (13 SNP)	AD	♥
<u>Apolipoprotein A1</u>	APOA I	chr11	1,870	24	AD	♥
<u>Apolipoprotein A2</u>	APOA II	chr1	1,336	4	AD	?
<u>Fibrinogen</u>	FGA	chr4	5,469	15 (2 SNP)	AD	♥
<u>Lysozym</u>	LYZ	chr12	5,880	9 (1 SNP)	AD	X
<u>Gelsolin</u>	GSN	chr9	33,042	4	AD	?
<u>Cystatin C</u>	CST 3	chr20	4,281	1	AD	X

Sekvenování nové generace (NGS)

- NGS ovládlo DNA diagnostiku
- Všech 11 genů
- 4 raritní (*PRP, APP, AβM, ABri*)
- Unikátní set 330 vzorků kardiom.
- Platforma Illumina MiSeq (48/run)
- Vyloučení AL amyloidózy
- Předpokládáme 5% záchyt (ALA+HA)
- Finanční hledisko:



Zdroj: <http://genoseq.ucla.edu/action/view/MiSeq>

Snižuje razantně finanční náklady na diagnostiku, ale případě, že je prováděn screening u více vzorků v jednom běhu sekvenace!

Pokrytí genů u NGS

Target ID	Regions	Coverage	High Coverage ($\geq 90\%$)	Low Coverage ($< 90\%$)
chr12:69747517-69747666	1	100 %	1	0
chr20:23618449-23618500	1	0 %	0	1
chr21:27461817-27461855	1	100 %	1	0
chr20	1	100 %	1	0
APOA1	3	100 %	3	0
APOA2	2	99.09 %	2	0
APP	23	99.4 %	23	0
B2M	3	100 %	3	0
CST3	5	98 %	4	1
FGA	6	100 %	6	0
GSN	29	98.1 %	28	1
ITM2B	7	100 %	7	0
LYZ	4	90.6 %	3	1
PRNP	2	100 %	2	0
TTR	7	100 %	7	0

Proteiny akutní fáze (PAP)

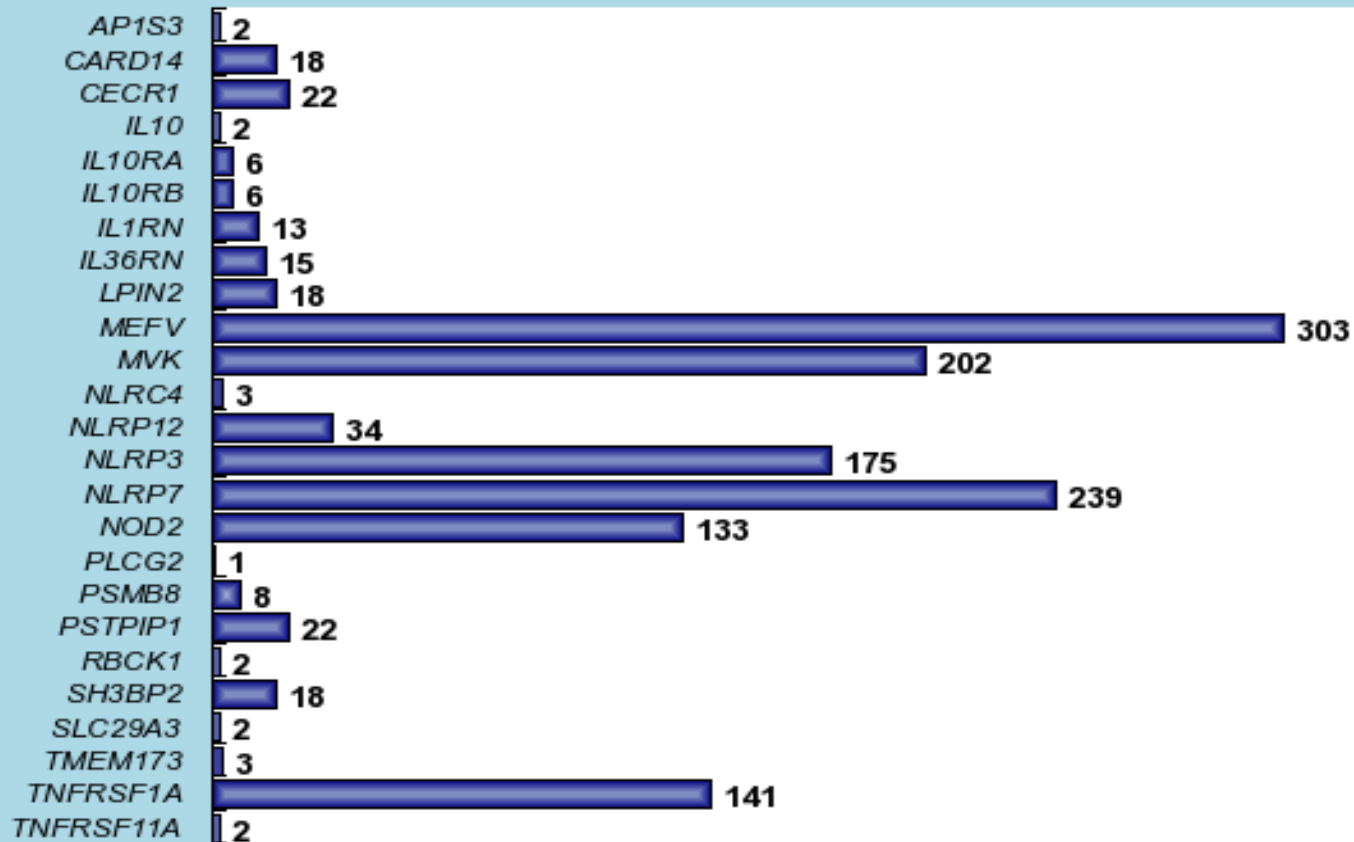
- Řadíme mezi HA, SAA amyloid
- Monogenní onem., AD i AR
- Porucha regulace zánětu
- Period. horečky a autoinf. onem.
- 25 genů
- Amyloidóza asi u 60-70%
- Endemické oblasti výskytu
- Manifestace již v dětském věku



Zdroj: <https://www.rareconnect.org/>

Přehled mutací v genech PAP

Current number (1390) of sequence variants in the database



Zdroj: <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/>

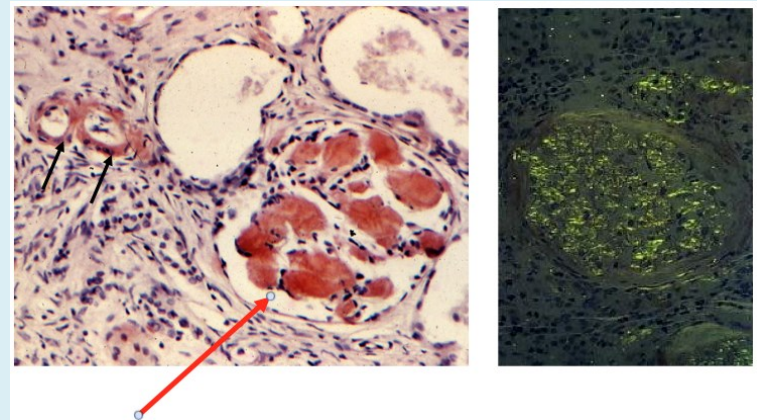
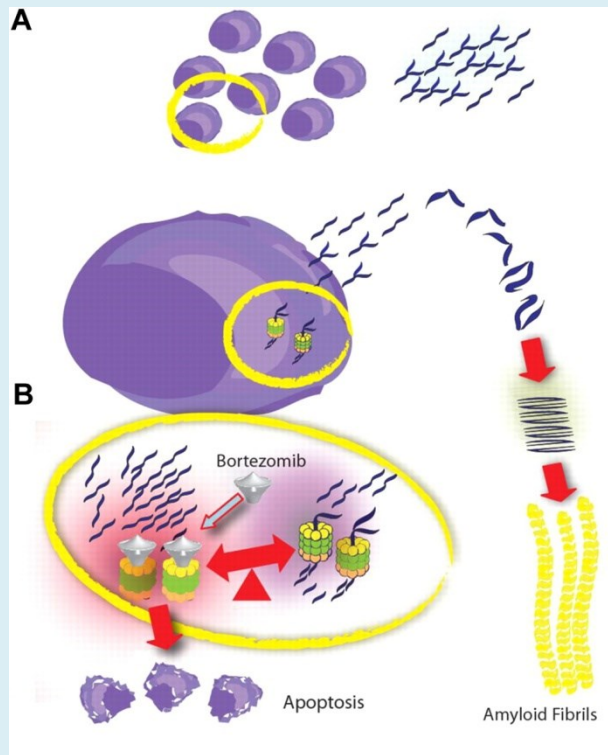
Přehled autoinflamatorních onemocnění

Tab. 1 Přehled autoinflamatorních onemocnění

Onemocnění	Gen	Diagnostika	Terapie
Hereditární periodické horečky			
Většinou spojené s poruchou funkce inflamazomu			
familiární středozevní horečka	<i>MEFV</i> (pyrin)	typické klinické příznaky, rodinná anamnéza, genetické vyšetření	kolchicin, nově jsou zprávy o účinku IL-1 blokády
TRAPS (TNF Receptor-Associated Periodic Syndrome)	<i>TNFRSF1A</i> (TNFR1)	klinické příznaky, rodinná anamnéza, AD dědičnost, genetické vyšetření	kortikoidy, blokáda prozánětlivých cytokinů (IL-1, IL-6, TNF- α)
hyper IgD syndrom (HIDS)	<i>MVK</i> (mevalonate kinase)	klinické příznaky, vysoké IgD a hlavně IgA, genetické vyšetření	nesteroidní antirevmatika, kortikoidy, blokáda IL-1
familiární chladová urtikarie (FCAS)	<i>NLRP3/CIAS1</i> (NLRP3/cryopyrin)	urtikarie po celkové expozici chladu, artralgie, myalgie, konjunktivitidy, horečky, hluchota, amyloidóza, artralgie, myalgie, uveitidy, afty, urtikariální dermatitida až vaskulitida kožní, hyperostóza, artritidy, aseptická meningitida, hluchota, oční projevy, poruchy růstu, těžké postižení	blokáda IL-1
Muckle-Wells syndrom (MWS)			
NOMID (Neonatal-Onset Multisystem Inflammatory Disease)			

Zdroj: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/periodicke-horecky-a-autoinflamatorni-onemocneni-klinicky-pristup-463470>

AL amyloidóza

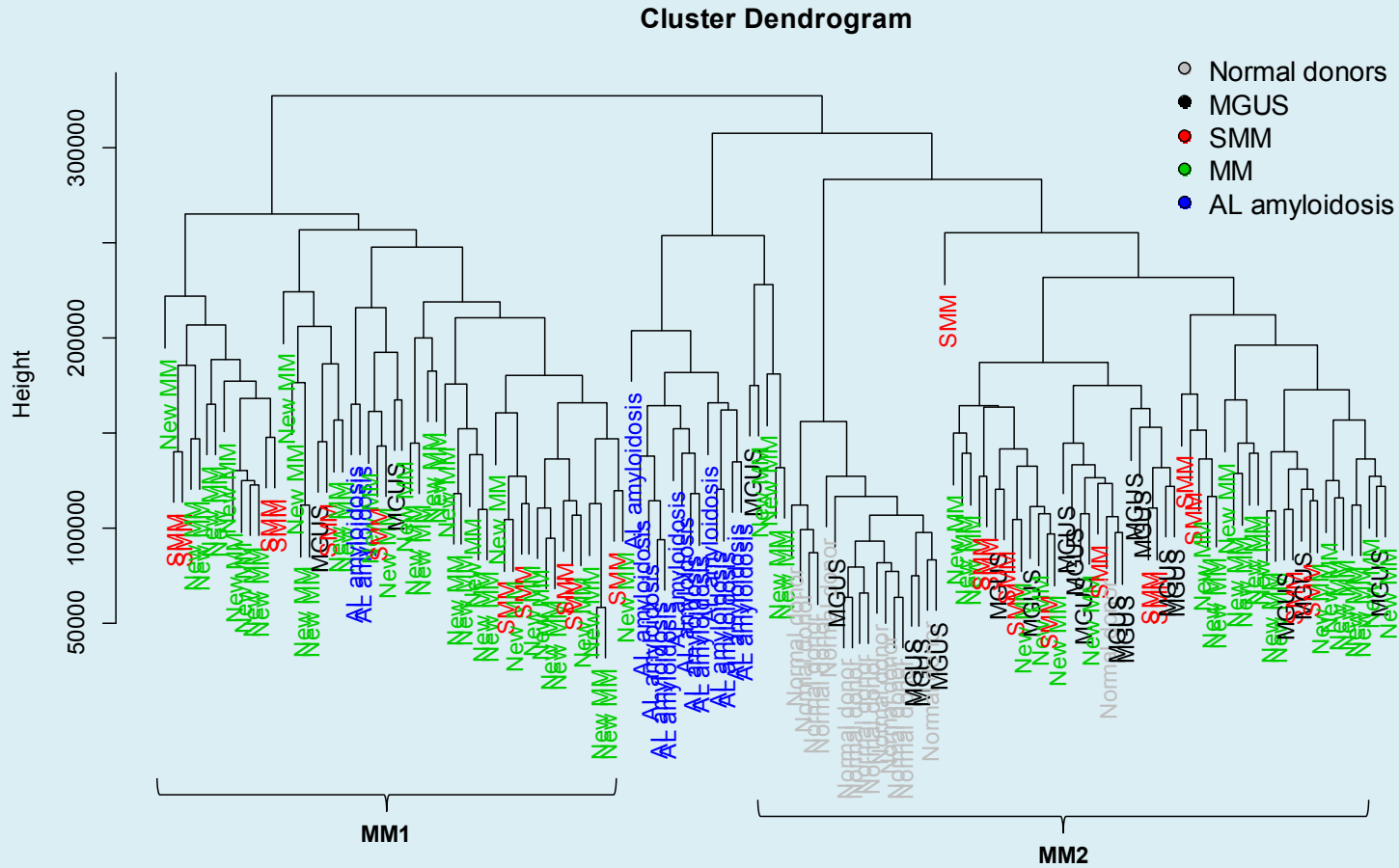


Zdroj: <https://www.studyblue.com/notes/n/inflammation-and-amyloid/deck/13576992>

Genomický profil AL amyloidózy

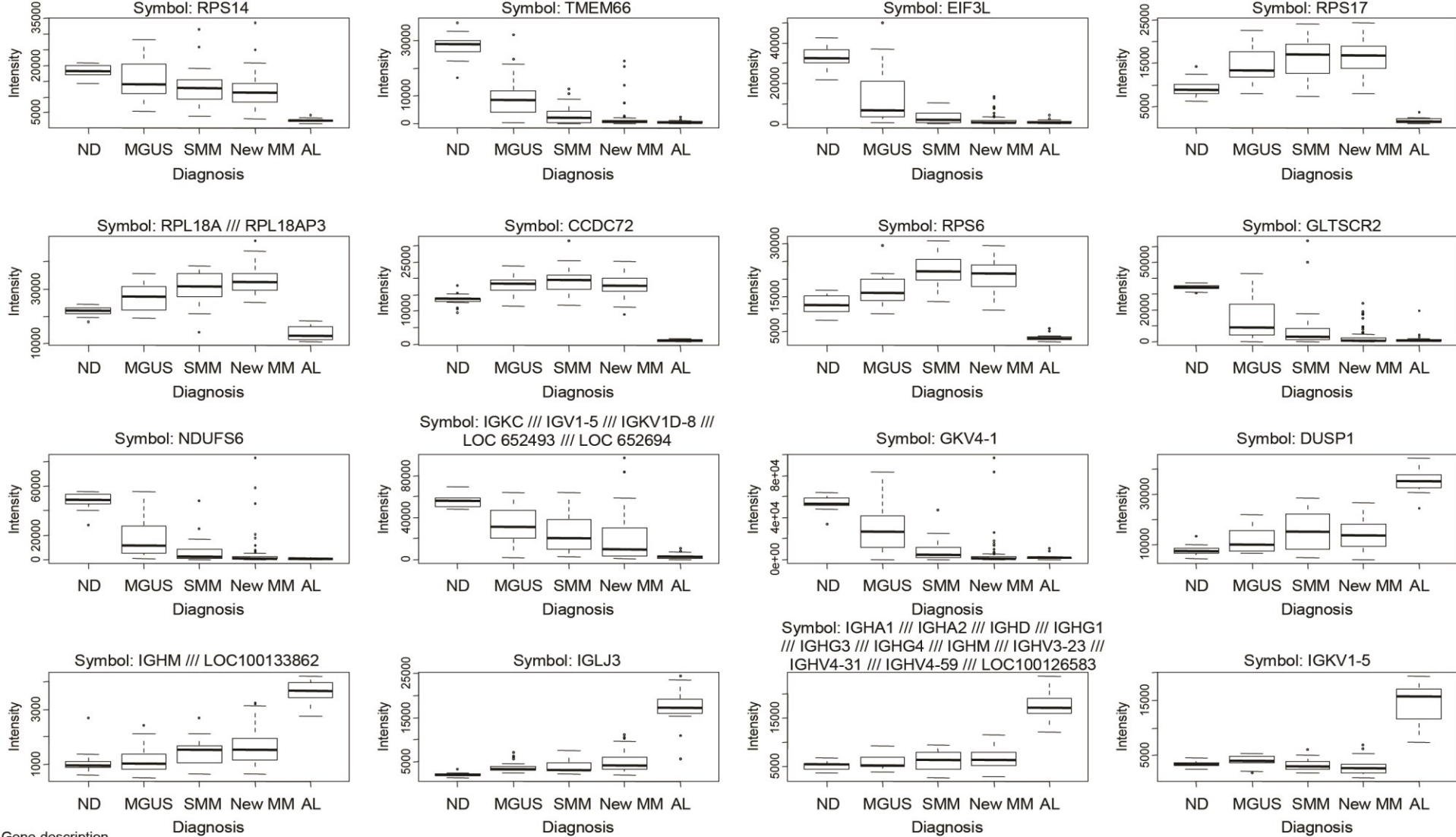
- Metaanalýza dat z databáze GEO (Gene Expression Omnibus)
- ID souborů: GSE6477, GSE24128
- HD (n=15), MGUS (n=21), SMM (n=24), MM (n=69) and ALA (n=16)
- Cíl: odhalit změny expresního profilu ALA oproti MM, SMM, MGUS a HD

Genomický profil AL amyloidózy



Genomický profil AL amyloidózy

- Unikátní genomický profil ALA: 256 genů
- 16 genů – geny, které mají nejlepší prediktivní schopnost diferenciaci pacientů AL z ND, MGUS, SMM nebo z MM



Gene description

RPS14: ribosomal protein S14

TMEM66: transmembrane protein 66

EIF3L: eukaryotic translation initiation factor 3, subunit L

RPS17: ribosomal protein S17

RPL 18A/// RPL 18AP3: ribosomal protein L18a /// ribosomal protein L18a pseudogene 3

CCDC72: coiled-coil domain containing 72

RPS6: ribosomal protein S6

GLTSCR2: glioma tumor suppressor candidate region gene 2

NDUFS6: NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 6, 13kDa (NADH-coenzyme Q reductase)

IGKC /// IGKV1-5 /// IGKV1D-8 /// LOC 652493 /// LOC 652694: immunoglobulin kappa constant /// immunoglobulin kappa variable 1-5, other not shown

IGKV4-1: immunoglobulin kappa variable 4-1

DUSP1: dual specificity phosphatase 1

IGHM /// LOC100133862: immunoglobulin heavy constant mu /// ig heavy chain V-I region V35-like

IGLJ3: immunoglobulin lambda joining 3

IGHA1 /// IGHA2 /// IGHD /// IGHG1 /// IGHG3 /// IGHG4 /// IGHM /// IGHV3-23 /// IGHV4-31 /// IGHV4-59 /// LOC100126583: immunoglobulin heavy constant /// immunoglobulin heavy variable, other not shown

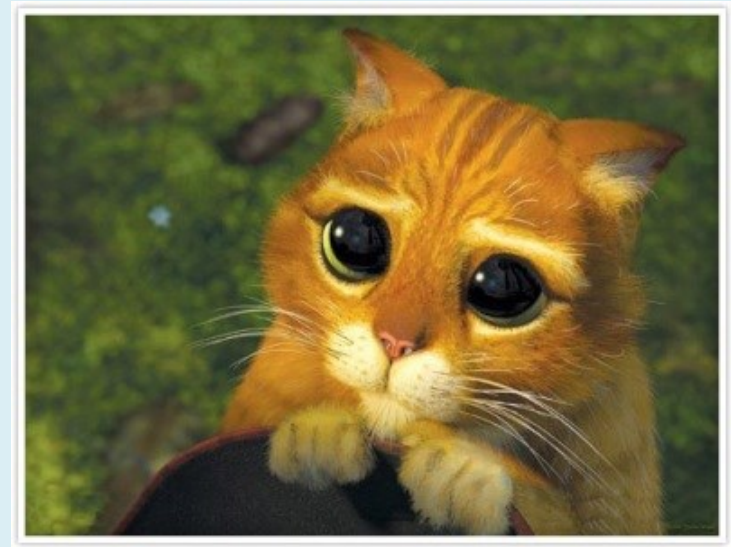
IGKV1-5: immunoglobulin kappa variable 1-5

Genomický profil AL amyloidózy

- Bližší studium genů - geny spojené s ribozomy (strukturní geny, iniciační faktory) a geny pro imunoglobulinové řetězce (stavební proteiny)
- GEP, qRT PCR – potřeba více dat pro AL → validace modelu
- Analýza výsledku GEP z MM: “ALA-like” profile

Klonální diverzifikace aberantních plazmatických buněk u amyloidózy lehkých řetězců imunoglobulinů

- Projekt AZVČR
- Popsat vznik a klonální diverzifikaci aberantních klonů plazmatických buněk identifikovaných pomocí NGS u nemocných ALA v kombinaci s MM
- Žádost o vzorky: AL, AL+MM
 - periferní krev v EDTA 7 ml
 - kostní dřeň min. 30 ml



Poděkování/Acknowledgement

Tým pro MDS a myeloproliferace

prof. MUDr. Elena Tóthová, CSc.
MUDr. Lukáš Stejskal
MUDr. Cecília Bodzásová
MUDr. Zuzana Kučerová
MUDr. Petra Richterová

CLL tým

prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.
MUDr. Jana Zuchnická

Ostatní lékaři KHO

MUDr. Jana Fečková – Mihályová

Výzkumný tým KHO

MUDr. Fedor Kryukov, Ph.D.
MUDr. Elena Kryukova, Ph.D.
Mgr. Zuzana Kuřová
Bc. Jana Filipová

Laboratorní tým KHO

Mgr. Jana Smejkalová, Ph.D.
Mgr. Lucie Adamusová
Mgr. Lukáš Grebeníček
Bc. Petra Vrublová
Mgr. Hana Svěchová

Tým pro trombózu a hemostázu

prim. MUDr. Jaromír Gumulec
prim. MUDr. Milan Matuška, Ph.D.

ALA a WM tým

prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.
MUDr. Lenka Zahradová, Ph.D.
MUDr. Hana Plonková
MUDr. Tomáš Jelínek
MUDr. Michal Kašćák

Tým pro ALL/AML

MUDr. Zdeněk Kořístek, Ph.D.
MUDr. Petra Richterová

Myelomový tým

prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.
MUDr. Lenka Zahradová, Ph.D.
MUDr. Hana Plonková
MUDr. Tomáš Jelínek

Lymfomový tým

MUDr. Juraj Ďuraš
MUDr. Milan Navrátil
MUDr. Michal Kašćák



Sesterský tým pod vedením:

Mgr. Kateřiny Hašové
Kateřiny Horákové
Mgr. Františky Vyhnánkové
Petry Ramikové

Datamanažerský tým

pod vedením:

Mgr. Martiny Januškové

Spolupráce:

MUDr. Tomáš Pika, Ph.D.

Děkuji za pozornost