

НАЦИОНАЛЕН ГЕНОМСКИ ПРИСТАП ЗА РЕТКИ БОЛЕСТИ: ОД ИСТРАЖУВАЊЕ ДО ДИЈАГНОЗА И ПРЕВЕНЦИЈА

Главен истражувач: проф д-р Дијана Плашеска-Каранфилска, доп. член на МАНУ

Иако поединечно се ретки, заедно ретките болести претставуваат сериозен јавноздравствен и социјален предизвик. Над 80% од ретките болести се од генетско потекло и најчесто се манифестираат уште во детската возраст, со значајно влијание врз здравјето и квалитетот на животот на пациентите и нивните семејства. Геномиката, пред сè преку примената на целосно егзомско секвенционирање (WES), направи револуција во дијагностиката на ретките болести, овозможувајќи молекуларна дијагноза кај околу 30–40% од случаите. Сепак, значителен дел од пациентите остануваат без дијагноза, што укажува на потребата од нови технологии и пристапи, како што се секвенционирање на долги читања и RNA секвенционирање, кои овозможуваат откривање на структурни варијанти, интронски промени, повторувачки секвенци и криптични сплајсинг ефекти кои WES не ги детектира.

Дополнително, достапноста на популациски податоци е од извонредно значење за правилна интерпретација на генетските варијанти и поставување на прецизна дијагноза. Базите на податоци како gnomAD вклучуваат претежно западни популации, што го отежнува класифицирањето на варијантите кај пациенти од други популации како што е македонската. Утврдувањето на застапеноста на ретки патогени варијанти и гени во нашата популација, како и создавање на национална база на податоци, е неопходно за зголемување на прецизноста на генетската дијагноза и креирање на таргетирани превентивни програми и политики, како што се преконцепцискиот скрининг, пренаталното и преимплантациското генетско тестирање.

Преконцепцискиот генетски скрининг овозможува навремено откривање на носители на патогени варијанти кај идните родители, со цел информирано планирање на бременоста и намалување на ризикот за наследни болести кај потомството. Пренаталната дијагноза претставува клучен елемент во современата перинатална медицина, овозможувајќи откривање на генетски заболувања кај плодот уште во текот на бременоста, со цел навремена и информирана одлука за натамошниот тек на бременоста. Преимплантациското генетско тестирање за моногенски болести (PGT-M) овозможува селекција на ембриони без специфични наследни мутации пред нивниот трансфер во матката, претставувајќи напредна стратегија за превенција на тешки наследни болести кај семејства со позната генетска мутација.

Истражувачкиот центар за генетско инженерство и биотехнологија при Македонската академија на науките и уметностите (ИЦГИБ–МАНУ), како водечка национална институција во областа на молекуларната медицина, геномика, протеомика и молекуларна дијагностика, со децении е посветен на молекуларна карактеризација на ретки моногенски болести како таласемии, цистична фиброза, спинална мускулна атрофија, мускулна дистрофија, хемофилија, фрагилен X синдром, Хантингтоновата болест и многу други. Во 2013 година, ИЦГИБ-МАНУ беше првата институција во земјата која ги воведо Next-Generation Sequencing (NGS) технологиите, со кои до денес во ИЦГИБ се анализираат околу 1300 клинички или целосни егзоми кај пациенти со ретки

болести. Направени се и повеќе од 500 пренатални дијагнози за различни моногенски болести, а преимплантациското генетско тестирање сеуште не е достапно во нашата земја. Стекнатото искуство и достапноста на примероци и податоци во ИЦГИБ се непроценлив ресурс за следниот чекор – интегриран национален геномски пристап за ретките болести.

Овој предлог проектот има за цел подобрување на здравствената грижа за пациентите со ретки болести и е структуриран околу три меѓусебно поврзани цели:

Цел 1: Спроведување на мулти-омски истражувања кај пациенти со ретки болести без поставена дијагноза после WES анализа

Со цел поставување на генетска дијагноза кај дел од пациентите со ретки болести со негативен наод од WES анализата ќе бидат спроведени повеќе активности. Најпрво ќе биде направена реанализа на егзомски податоци од недијагностицираните пациенти преку учество во европски мрежи за ретки болести и со примена на напредни алатки како RD-Connect GPAP и Matchmaker Exchange. Ќе се изврши рекласификација на рапортираните VUS варијанти, функционални испитувања на сплајсинг ефекти преку таргетирани РНА анализи, како и таргетирано секвенционирање на некои ново-откриени гени како RNU4-2 кој е причина за дел од пациентите со невро-развојни болести. За селектирани нерешени случаи ќе се користат напредни технологии како long-read секвенционирање и RNA-seq. Со истражување на диференцијално експресирани протеини кај група на пациенти со ретки болести ќе се обидеме да дојдеме до дијагноза кај дел од недијагностицираните пациенти.

Цел 2: Утврдување на застапеноста на ретките рецесивни алели во македонската популација

Преку анализа на ~1300 егзоми од пациенти и нивни родители, ќе се одреди застапеноста на ретките варијанти во нашата популација и ќе се идентификуваат најзастапените патогени алели и гени. Генетските податоци од секвенционирањето ќе бидат агрегирани и прецизно анотирани според стандардни биоинформатички протоколи, користејќи најнова верзија на референтен геном и најнови информации од јавни бази на податоци за варијанти (како ClinVar и gnomAD).

Овие податоци ќе послужат за развој на национален панел за предконцепциски скрининг, што ќе овозможи навремено откривање на носители и ќе претставува основа за превенција на тешки наследни заболувања во нашата популација. За да се поттикне соработката и да се обезбеди транспарентност, агрегираните, филтрирани според фреквенција и анонимни податоци ќе бидат јавно достапни за истражувачката заедница и сите заинтересирани страни.

Цел 3: Развој на методи за преимплантациско генетско тестирање (PGT)

Ќе се дизајнираат и валидираат протоколи за примплантациско генетско тестирање за моногенски болести (PGT-M) за неколку најчести ретки болести, како цистична фиброза, спинална мускулна атрофија и бета таласемија преку одредување на хаплотипови со анализа на единечни нуклеотидни полиморфизми (SNPs) и кратки тандем повторувања (STRs). Изборот на информативни маркери ќе биде базиран на популациските алелни фреквенции, земајќи ги во

предвид и етничките разлики меѓу македонската и албанската популација. Ќе се воведат и методи за PGT за анеуплоидии (PGT-A) со NGS, aCGH и MLPA со цел избегнување на анеуплоидни ембриони кај семејствата со ретки болести кои ќе се подвргнат на PGT-M. Со цел усогласување со европските стандарди, во текот на работата на овој проект лабораторијата ќе учествува и во меѓународна шема за надворешна евалуација на квалитетот на преимплантациското генетско тестирање (GENQA).

Со интегрирање на најсовремени омикс технологии, биоинформатика и јавноздравствени мерки за подобрена здравствена грижа на пациентите со ретки болести, овој предлог проект е актуелен, иновативен и стратешки важен за нашата Држава. Преку креирање на национална база на ретки патогени варијанти, зголемување на дијагностичката стапка на ретките болести и имплементација на превентивни мерки, ќе се постават основите за персонализирана медицина и генетско советување на ново, повисоко ниво, со што ќе се подобри квалитетот на живот на пациентите со ретки болести и нивните семејства. Истовремено, проектот ќе придонесе за продлабочување на научното знаење и ќе ја зголеми конкурентноста на нашата земја во меѓународните истражувачки рамки преку учество во европски и глобални иницијативи за ретки болести.