



Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0296**

Štúdium genetických príčin zriedkavých ochorení s dôrazom na metabolické poruchy asociované s hypoglykémiami a poruchy mitochondrií

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Daniela Gašperíková, DrSc.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. - Ústav experimentálnej endokrinológie**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Bratislava
Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Lekárska fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecní fakultní nemocnice Praha, Klinika pediatrie a dedičných poruch metabolizmu, doc. Markéta Tesařová, PhD – spolupráca pri funkčnej charakterizácii mutácií v géne ATAD3A

Nantes Université, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France; Nantes Université, CHU Nantes, CNRS, INSERM (prof. S. Kury) v oblasti funkčnej charakterizácie génu PSMB5

2. Lekárska fakulta Univerzity Karlovy, Praha: doc. MUDr. Štěpánka Průhová, PhD – spolupráca v rámci funkčnej charakterizácie mutácií identifikovaných u pacientov s Wolframovým syndrómom

Université Libre de Bruxelles (prof. M. Cnop), spolupráca v oblasti iPSC pripravených z krvi pacientov s MDM, 8 mesačná stáž doktorandky Mgr. T. Valkovičovej v roku 2020, v roku 2022 spolupracujúce pracovisko pokračuje v reprogramovaní iPSC.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

N/A

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

KOLNÍKOVÁ, Miriam - JUNGOVÁ, Petra - ŠKOPKOVÁ, Martina - FOLTAN, Tomáš - GAŠPERÍKOVÁ, Daniela - MATTOŠOVÁ, Slávka - CHANDOGA, Ján. Late infantile metachromatic leukodystrophy due to novel pathogenic variants in the PSAP gene. In Journal of Molecular Neuroscience, 2019, vol. 67, no. 4, p. 559-563.

HULÍN, J - ŠKOPKOVÁ, Martina - VALKOVIČOVÁ, Terézia - MIKULAJOVÁ, S - ROSOL'ANKOVÁ, M - PAPCÚN, P - GAŠPERÍKOVÁ, Daniela - STANÍK, Juraj. Clinical implications of the glucokinase impaired function - GCK MODY today. In Physiological Research, 2020, vol. 69, no. 6, p. 995-1011.

TROCHANOVÁ, Ivana - STANÍKOVÁ, Daniela - ŠKOPKOVÁ, Martina - HAŠTOVÁ, Klaudia

- GAŠPERÍKOVÁ, Daniela - STANÍK, Juraj - ČIŽNÁR, P. Immunologic phenotype of a child with the MEHMO syndrome. In *Physiological Research*, 2020, vol. 69, no. 5, p. 927-932.
ŠAFKA-BROŽKOVÁ, Dana - VARGA, Lukáš - UHROVÁ MESZAROSOVÁ, Anna - SLOBODOVÁ, Zuzana - ŠKOPKOVÁ, Martina - ŠOLTÝSOVÁ, Andrea - FICEK, Andrej - JENČÍK, Jan - GAŠPERÍKOVÁ, Daniela - SEEMAN, Pavel. Variant c.2158-2AG in MANBA is an important and frequent cause of hereditary hearing loss and beta-mannosidosis among the Czech and Slovak Roma population-evidence for a new ethnic-specific variant. In *ORPHANET Journal of Rare Diseases*, 2020, vol. 15, no. 1, art. no. 222.
BRENNEROVÁ, Katarína - ŠKOPKOVÁ, Martina – OSTROŽLÍKOVÁ, Mária – ŠALIGOVÁ, Jana – STANÍK, Juraj – BZDÚCH, Vladimír – GAŠPERÍKOVÁ, Daniela. Genetic testing is necessary for correct diagnosis and treatment in patients with isolated methylmalonic aciduria: a case report. In *BMC Pediatrics* 2021 Dec 16;21(1):578.
RAMBANI, Vibhuti - HROMNÍKOVÁ, Dominika - GAŠPERÍKOVÁ, Daniela - ŠKOPKOVÁ, Martina. Mitochondria and mitochondrial disorders: an overview update. In *Endocrine Regulations* 2022, vol. 56, no. 3, p. 232-248.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky riešenia projektu našli priame uplatnenie v klinickej praxi pri diagnostike a liečbe pacientov so závažnými hypoglykémiami v detstve a primárnymi mitochondriopatiami. Celkovo sme počas riešenia projektu odoslali ošetrovujúcim lekárom viac ako 100 správ na štandardizovanom tlačive podľa pravidiel EMQN (European Molecular Quality Genetics Network), ktoré obsahovali ako genetickú tak aj klinickú interpretáciu výsledkov. U niektorých diagnóz (kongenitálny hypoglykemický hyperinzulinizmus, izolovaná metylmalónová acidúria) bola vykonaná zmena liečby na základe farmakogenetických prístupov. V prípade primárnych mitochondriopatií, kde kauzálna liečba nie je možná, DNA diagnostika umožnila ukončiť „diagnostickú odyseu“ pacientov, stanoviť prognózu ochorenia a vykonať genetické poradenstvo v rodine. In vitro funkčné štúdie zas môžu pomôcť nielen pri určovaní patogenity nového génu alebo jeho variantu, ale aj pri hľadaní nových mechanizmov pre ciele terapiu pacientov so študovanými zriedkavými ochoreniami.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Najčastejšou príčinou hypoglykémii boli hyperinzulinemické hypoglykémie (CHI) a metylmalónové acidúrie. V priebehu riešenia projektu sme identifikovali pacientov s najťažšou formou CHI, rezistentnou na diazoxid, spôsobenou mutáciami v génoch ABCC8 a KNCJ11. Následne bola terapia modifikovaná podľa princípov farmakogenetiky. U pacientov s metylmalónovou acidúriou a identifikovanými mutáciami v géne MMAA a mut- mutáciami v géne MUT je indikovaná terapia pomocou intramuskulárnej aplikácie hydroxokobalamínu, ktorá zlepšuje klinické prejavy tohto ochorenia. Naše výsledky ukazujú, že aj u pacientov s mutáciami v géne MMAB môže byť táto terapia prínosom pre pacienta. Najčastejšími príčinami primárnych mitochondriopatií bol MIDD syndróm spôsobený mutáciou v mtDNA m.3243A>G, Leighov syndróm spôsobený mutáciami v géne SURF1 a s ATAD3A mutáciami asociované ochorenie. V rámci tejto diagnózy sme identifikovali 18 rôznych génov, z toho 15 zaznamenaných prvýkrát na Slovensku. Okrem toho sme stanovili prevalenciu MIDD/MELAS syndrómu, ktorá bola v neselektovanej populácii diabetikov 0,13 % (6 jedincov zo 4 580 vyšetovaných), v selektovanej populácii pacientov s monogénovým diabetom 1 % (6 zo 579) a v súbore porúch sluchu 0,6 % (7 zo 1033). Pre vykonávanie in vitro funkčných analýz sme založili biobanku primárnych fibroblastov z biopsie kože. Vykonali sme in vitro funkčnú charakterizáciu variantov s neznámym významom v géne PMPCA, kde sme v patientskych fibroblastoch pozorovali zníženú hladinu α -MPP a rozdielnú morfológiu mitochondrií v porovnaní s kontrolami, čo podporuje možnú patogenicitu identifikovaných variantov. Zároveň sme poukázali na úlohu ATAD3A v mitochondriálnych membránach asociovaných s endoplazmatickým retikulom.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Hyperinsulinemic hypoglycemia (CHI) and methylmalonic aciduria were the most common causes of hypoglycemia identified in patients during the project. We have identified patients with the most severe diazoxide-resistant form of CHI, caused by mutations in the ABCC8

and KNCJ11 genes. Consequently, the therapy was modified according to the principles of pharmacogenetics. In patients with methylmalonic aciduria with identified mutations in the MMAA and mut- mutations in the MUT gene, therapy with intramuscular administration of hydroxocobalamin is indicated in order to improve the clinical manifestations of this disease. Our results show that even patients with mutations in the MMAB gene may benefit from this therapy. The most common causes of primary mitochondriopathies were MIDD syndrome caused by mutations in the mtDNA m.3243A>G, Leigh syndrome caused by mutations in the SURF1 gene, and ATAD3A mutation-associated disease. We identified 18 different genes within this diagnosis, 15 of which were reported for the first time in Slovakia. In addition, we determined the prevalence of MIDD/MELAS syndrome, which was 0.13% in the unselected diabetic population (6 individuals out of 4,580 analyzed), 1% in the selected population of patients with monogenic diabetes (6 out of 579), and 0.6% in the hearing impairment cohort (7 out of 1,033). With the goal to carried out in vitro functional analyses, we established a biobank of primary fibroblasts from skin biopsies. We performed functional characterization of variants of unknown significance in the PMPCA gene. We observed reduced α -MPP levels and different mitochondrial morphology in patient fibroblasts compared to controls, supporting the possible pathogenicity of the identified variants. We also highlighted the role of ATAD3A in endoplasmic reticulum-associated mitochondrial membranes.