

XVII Corso residenziale



REGISTRO  
TOSCANO  
DI FETTI  
CONGENITI

*Malformazioni Congenite  
dalla Diagnosi Prenatale  
alla Terapia Postnatale*

**Le Mucopolisaccaridosi  
La Trisomia 21**



**Palazzo delle Professioni  
via Pugliesi 26, Prato**

<http://www.palazzodelleprofessioniprato.it/>

**18-19  
ottobre  
2018**



**14.50 SESSIONE I**

**Le Mucopolisaccaridosi**

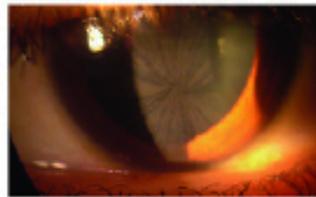
**Il punto di vista del:  
Genetista**

**Sabrina Giglio**

**Università degli Studi di Firenze  
SOC Genetica Medica - AOU Meyer**

Disturbi da **accumulo lisosomiale (LSD)** sono un gruppo eterogeneo di almeno 50 disordini genetici rari, causati dall'accumulo progressivo di specifiche molecole, generalmente dovuti a carenza di un enzima lisosomiale e meno frequentemente a difetti di proteine lisosomiali non enzimatiche, come per es. proteine transmembrana e di traffico

## Types of LSD



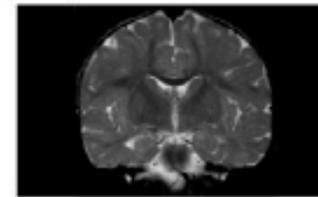
Fabry Disease: caused by abnormal storage of fats, known as lipids.



Gaucher's Disease: causes skeletal disfigurement.



Mannosidosis: causes problems in many organs and tissues



MLD: affects the central nervous system



MPS: affects bone, cartilage, tendons, corneas, skin and connective tissue



Neimann Pick: may cause enlargement of the spleen and/or liver



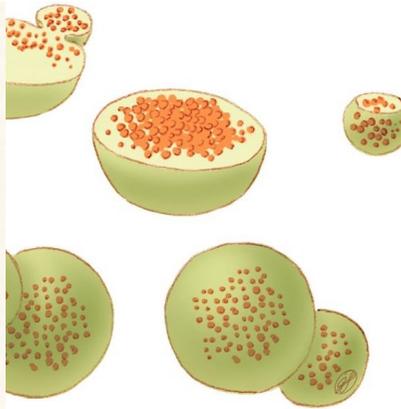
Pompe Disease: glycogen accumulates in lysosomes causing damage to muscle and nerve cells.



other

**Le mucopolisaccaridosi (MPS) rappresentano il secondo gruppo prevalente di LSD, dopo gli sfingolipidosi**

# Lis o s o m i



## ► Funzione:

- Si trovano nel citoplasma cellulare
- Contengono enzimi per la digestione inter-, intracellulare
- Sistema di «smaltimento dei rifiuti»
- Se non funziona correttamente, si determina un accumulo di cataboliti, che nel tempo portano alla morte della cellula

## ► Struttura:

- Numerosi enzimi idrolitici e digestivi
- Struttura tipo sacca sferica legata da una membrana a singolo strato che la circonda
- La membrana agisce come barriera protettiva nei confronti della cellula rispetto agli enzimi contenuti nel lisosoma.

# Mucopolisaccaridosi

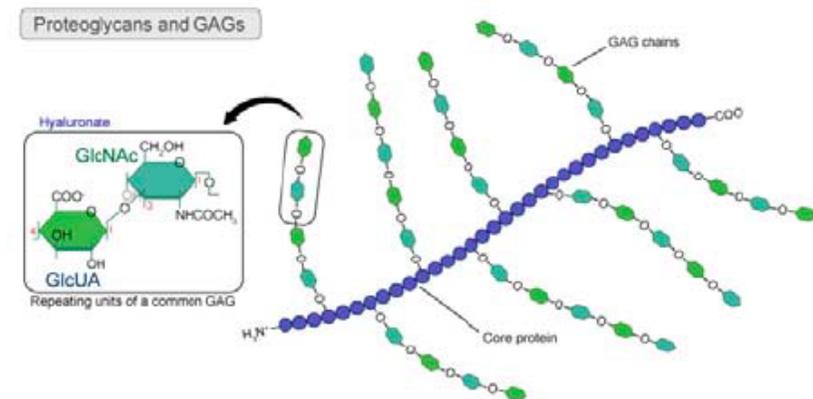
Sono disturbi da accumulo lisosomiale causati dalla carenza di enzimi necessari per la scomposizione dei **glicosaminoglicani (GAGs)**.

I GAGs si accumulano nei lisosomi, causando disfunzioni cellulari e anomalie cliniche.

## Proteoglicani

I **proteoglicani** sono una famiglia di glicoproteine altamente glicosilate, in cui le componenti glucidiche sono predominantemente **glicosaminoglicani**.

Si conoscono le strutture solo di alcuni proteoglicani, ed anche questi manifestano una diversità notevole.

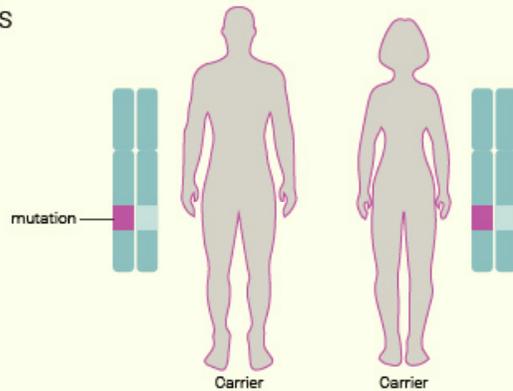


# Mucopolisaccaridosi

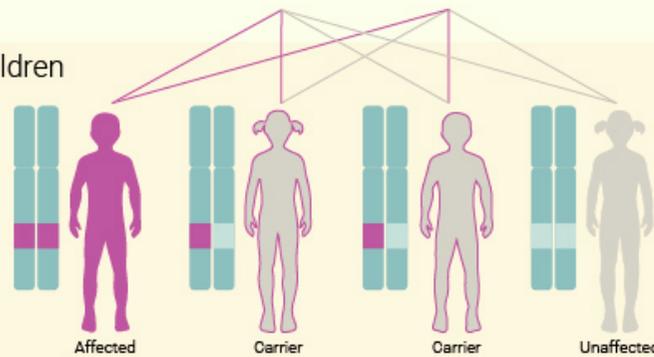
Sono tutti disturbi a trasmissione autosomica recessiva, ad eccezione della malattia di Hunter, che è X-linked recessiva

## Autosomal Recessive

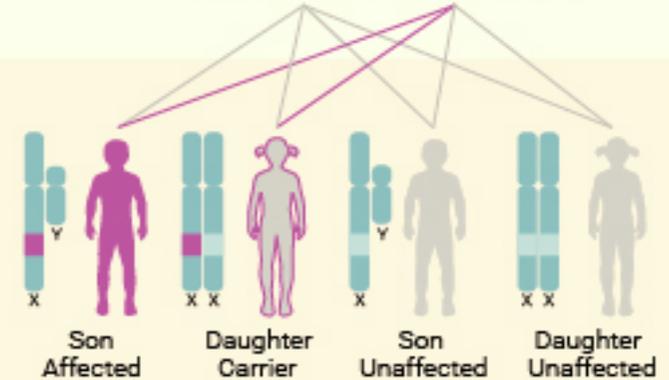
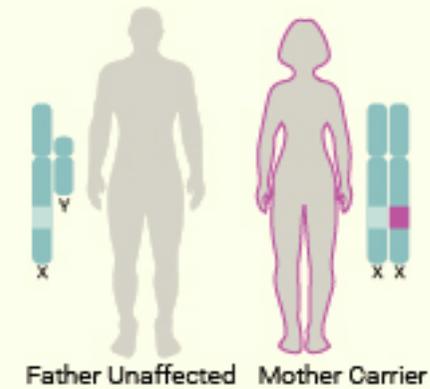
Parents



Children



## X-Linked Recessive



# Mucopolisaccaridosi

Questi disturbi sono causati da mutazioni nei geni che codificano per idrolasi lisosomiali, responsabili del catabolismo dei GAG

- dermatan solfato
- eparan solfato
- keratan solfato
- condroitin solfato
- acido ialuronico

risultante nel loro accumulo nei tessuti degli individui che poi risultano affetti.

A seconda della specifica carenza enzimatica coinvolta, il catabolismo dei GAG può essere bloccato in una determinata fase.

Esistono **11 deficit enzimatici noti**, ognuno dei quali si traduce in un sottotipo di differente MPS

**Per MPSPS (mucopolysaccharidosis-plus syndrome) non sono stati segnalati deficit di enzimi lisosomiali**

## Mucopolisaccaridosi

Type	Eponym	Deficient enzyme	GAGs stored	Gene	Chr.	OMIM
I	Hurler (IH)	$\alpha$ -L-iduronidase	DS, HS	IDUA	4p16	607014
	Scheie (IS)					607016
	Hurler-Scheie (IH/S)					607015
II	Hunter	iduronate sulfatase	DS, HS	IDS	Xq28	309900
III	Sanfilippo A	heparan N-sulfatase	HS	SGSH	17q25	252900
	Sanfilippo B	$\alpha$ -N-acetylglucosaminidase		NAGLU	17q21	252920
	Sanfilippo C	acetyl CoA: $\alpha$ -glucosaminide acetyltransferase		HGSNAT	8p11	252930
	Sanfilippo D	N-acetylglucosamine 6-sulfatase		GNS	12q14	252940
IV	Morquio A	galactosamine-6-sulfate sulfatase	KS, CHS	GALNS	16q24	253000
	Morquio B	$\beta$ -galactosidase	KS	GLB1	3p21	253010
VI	Maroteaux-lamy	arylsulfatase B	DS, CHS	ARSB	5q14	253200
VII	Sly	$\beta$ -glucuronidase	DS, CHS, HS	GUSB	17q21	253220
IX	Natowicz	Hyaluronidase	H	HYAL1	3p21	601492
MPSPS	Mucopolysaccharidosis-plus syndrome	Not an enzyme deficiency	HS	VPS33A	12q24	617303

Chr, chromosome, HS: heparan sulfate, D.S: dermatan sulfate, K.S: keratan sulfate, CHS: chondroitin-6-sulfate, H: Hyaluronan

La frequenza generale è tra  
**3.5/100.000** e **4.5/100.000**

Il sottotipo più comune è  
**Malattia di Sanfilippo** (MPS-III)



[team-sanfilippo.org](http://team-sanfilippo.org)

seguito dalla **Malattia di Hurler**  
(MPS-I)



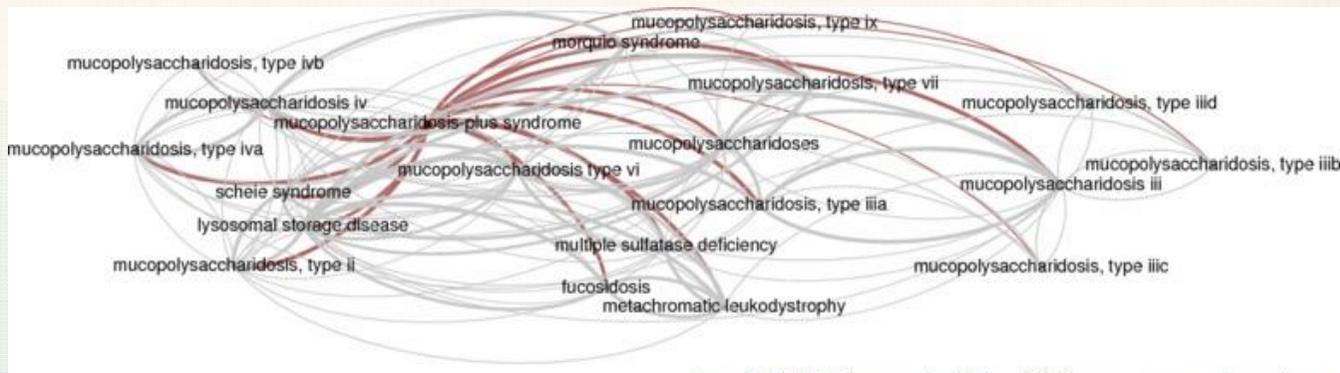
[http://dxline.info/  
Diseases/hurlersyndrome](http://dxline.info/Diseases/hurlersyndrome)

e dalla Malattia di **Hunter** (MPS II)



[flipper.diff.org](http://flipper.diff.org)

L'accumulo di GAG parzialmente degradati provoca disturbi multisistemici progressivi con penetranza e gravità variabili, che non sono evidenti alla nascita nella maggior parte dei casi, ma con caratteristiche che diventano evidenti di solito nei primi anni di vita, a seconda del tipo/sottotipo di MPS



**Tutto ciò rende difficile la diagnosi precoce delle MPS, causando un ritardo significativo tra l'insorgenza dei sintomi e una diagnosi precisa, specialmente nei pazienti con fenotipo attenuato, in cui la diagnosi finale potrebbe richiedere anche diversi anni o rimanere non diagnosticata**

## Tip o d i M u t a z i o n i

L'ampio spettro osservato nelle MPS è causato principalmente da un'elevata eterogeneità allelica nei geni correlati a questi tipi di condizioni, e quindi le differenze non possono essere sempre correlate con l'attività dell'enzima residuo

Test molecolari precisi possono potenzialmente prevedere la gravità della malattia e gli esiti futuri

Ad esempio, alcune mutazioni sono state associate a fenotipi più lievi:

**MPS I** (p.Ser633Trp20)



**MPS IIIA** (p.Arg206Pro21,  
p.Ser347Phe/p.Asp444Gly22 and  
p.Glu369Lys/p.Pro128Leu)



**MPS IIIC** (p.Gly262Arg and p.Ser539Cys)



L'ampio spettro osservato nelle MPS è causato principalmente da un'elevata eterogeneità allelica nei geni correlati a questi tipi di condizioni, e quindi le differenze non possono essere sempre correlate con l'attività dell'enzima residuo

## Tip o di Muta zioni

Test molecolari precisi possono potenzialmente prevedere la gravità della malattia e gli esiti futuri

Mentre, altre mutazioni sono state associate a fenotipi più gravi:

**MPS I** (p.Trp402Ter26  
and p.Gln70Ter)



**MPS IIIA** (p.Arg433Gln23)



**MPS II** (p.Ser333Leu and *IDS* total gene deletions)

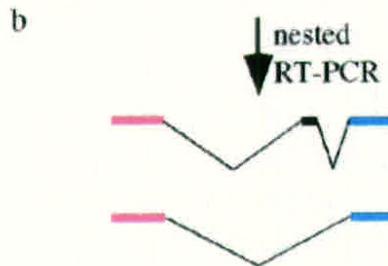
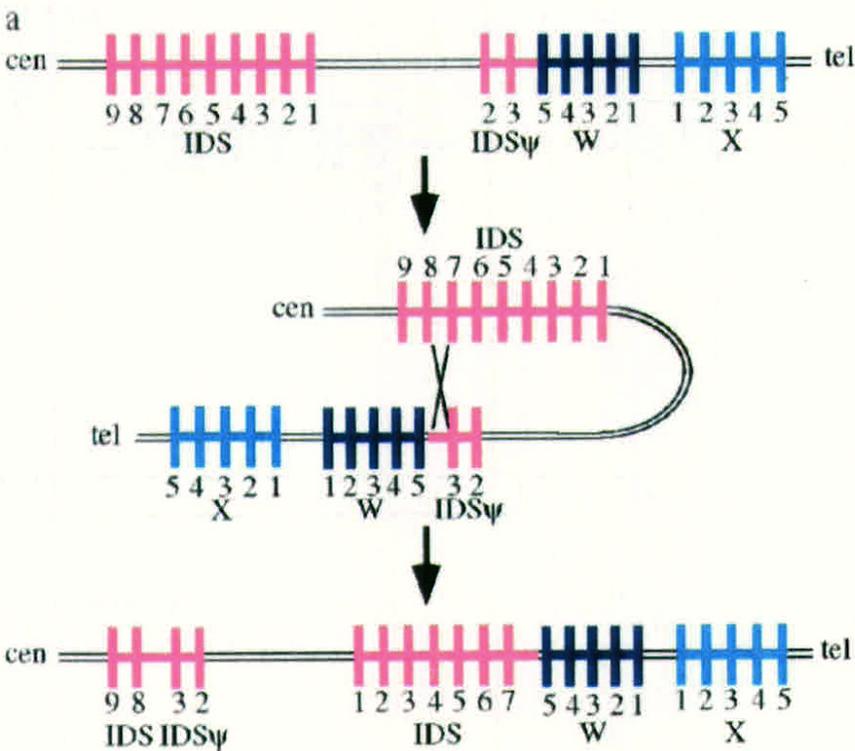


## Revisione sistematica delle caratteristiche della mutazione

Ad oggi, sono state segnalate oltre 2100 mutazioni in tutti e 12 i geni relativi a MPS, con la maggioranza di individui che mostrano mutazioni private (~ 70%)

Disorder	Gene	Mutations reported*	Mutation type (%)					
			M/N	S	R	SD/SI/SID	GD/GI/GID	CR
MPS I	IDUA	257	57.5	15	0.5	23	3	1
MPS II	IDS	628	50	9	0	29	9	3
MPS IIIA	SGSH	145	76	2	0	19	3	0
MPS IIIB	NAGLU	166	69	4	0	23	4	0
MPS IIIC	HGSNAT	68	56	20.5	0	16	6	1.5
MPC IIID	GNS	25	28	16	0	40	8	8
MPS IVA	GALNS	333	74.5	9.5	0	12	3	1
MPS IVB	GLB1	215	77	7.5	0	14	0.5	1
MPS VI	ARSB	197	75	6	0	16	3	0
MPS VII	GUSB	64	83	8	2	6	1	0
MPS IX	HYAL1	3	34	0	0	33	0	33
MPSPS	VPS33A	1	100	0	0	0	0	0
<b>Total mean</b>			<b>65.00</b>	<b>8.10</b>	<b>0.20</b>	<b>19.30</b>	<b>3.40</b>	<b>4.00</b>

M/N: missense/ nonsense, S: splicing, R: regulatory, SD: small deletions, SI: small insertions, SID: Small indels, GD: gross deletions, GI: gross insertions, GID: Gross indels, CR: complex rearrangements.



Nella MPS II, circa il 9% di tutte le mutazioni causative di malattia corrispondono a riarrangiamenti complessi che coinvolgono il gene dell'iduronato-2-solfatasi (*IDS*) e il suo omologo pseudogene (*IDS-2*, *IDSP1*), situato in orientamento invertito a 25kb rispetto al gene funzionale, verso il telomero

La presenza dello pseudogene rende il gene *IDS* più incline alla ricombinazione.

*IDS-2* è omologato all'esone 2 e 3 e agli introni 2, 3 e 7 del *IDS* trascritto, dove l'esone 3 identico al 100%, mentre le altre sequenze hanno una omologia del 96%

La frequenza delle mutazioni nei diversi geni all'interno e tra le popolazioni, varia a causa di diversi fattori come:

- pressione selettiva
- isolamento della popolazione
- isodisomia uniparentale (UPD)
- mosaicismo

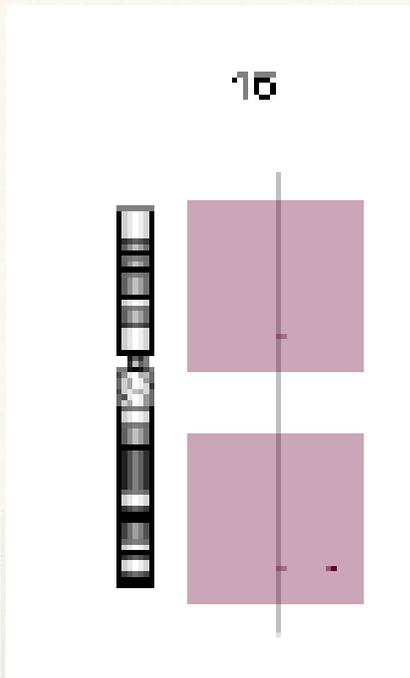
## Malattia di Sanfilippo

- L'incidenza varia geograficamente, 1 su
  - 50000 in Olanda
  - 66000 in Australia
  - 280000 in Irlanda del Nord



<http://www.primhealthchannel.com/sanfilippo-syndrome>  
[www.internationalstudentinsurance.com](http://www.internationalstudentinsurance.com)  
[www.gapyear.com](http://www.gapyear.com)  
[www.carhirecomparison.ie](http://www.carhirecomparison.ie)

## Isodisomia Uniparentale (UPD)



[Mol Genet Metab.](#) 2012 Mar;105(3):438-42. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.11.196. Epub 2011 Dec 2.  
**Morquio A syndrome due to maternal uniparental isodisomy of the telomeric end of chromosome 16.**

[Catarzi S<sup>1</sup>](#), [Giunti L](#), [Papadia F](#), [Gabielli O](#), [Guerrini R](#), [Donati MA](#), [Genuardi M](#), [Morrone A](#).

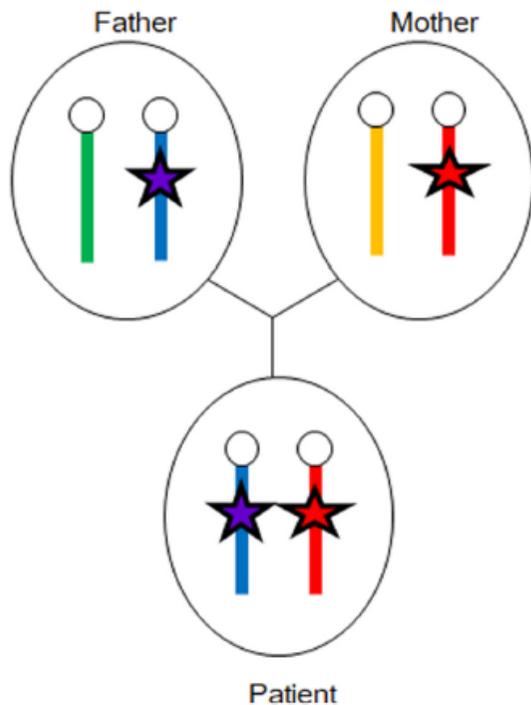
Un paziente con un fenotipo classico di **Morquio A** è risultato omozigote per una mutazione missenso (c.236 G>A; p.Cys79Tyr) nel gene *GALNS*

La mutazione era presente nella madre del probando, ma non nel padre, la cui paternità era stata confermata sia da SNP-array che dall'analisi dei microsatelliti sul cromosoma 16.

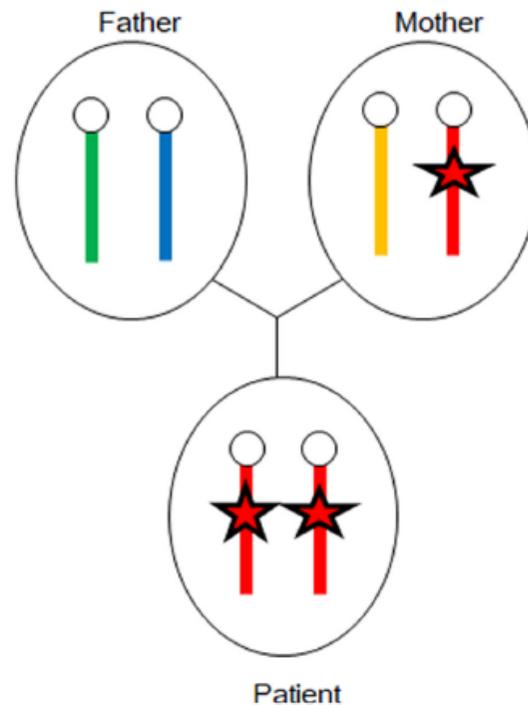
**Per testare l'ipotesi della disomia uniparentale (UPD), oggi lo SNP-array è il principale approccio diagnostico.**

## Smascheramento di una mutazione autosomica recessiva mediante isodisomia uniparentale

Typical autosomal recessive disorders



Unmasking of an autosomal recessive mutation by uniparental isodisomy



Il pannello di sinistra mostra una tipica trasmissione autosomica recessiva causata da mutazioni omozigoti o eterozigoti composti (stelle rosse e viola) trasmesse da entrambi i genitori.

Il pannello di destra mostra un esempio di trasmissione di tipo recessivo causata da isodisomia materna che comprende una mutazione eterozigote (stelle rosse).

## isolamento della popolazione: effetto del fondatore

mutazione nel gene *ARSB* (p.His178Leu) che causa MPS tipo VI si trova in alta frequenza nel nord-est del Brasile

L'incidenza di MPS VI varia da 1/43.000 a 1/1.505.000 nati

Tuttavia, nella contea di Monte Santo, situata nella campagna dello stato di Bahia, la frequenza della malattia è di 1/5.000 abitanti

I risultati dell'analisi del gene *ARSB* in pazienti provenienti da Polonia, Bielorussia, Lituania ed Estonia hanno mostrato una mutazione ricorrente (p.Arg152Trp), suggerendo un effetto fondatore anche questa area dell'Est Europa

**MPS IIIA (SGSH):** p.Ser66Trp (Italia)

**MPS IIIC (HGSNAT):** c.852-1G>A (Sud d'Italia)

# mosaicismo

Il mosaicismo somatico per una variante che causa MPS I associata a *IDUA* (delezione del gene intero) è stato riportato nella madre di una singola famiglia

Citation: Human Genome Variation (2016) 3, 16031; doi:10.1038/hgv.2016.31  
The Japan Society of Human Genetics

[www.nature.com/hgv](http://www.nature.com/hgv)

## DATA REPORT

### Maternal mosaicism for *IDUA* deletion clarifies recurrence risk in MPS I

Catherine Breen<sup>1</sup>, Jean Mercer<sup>1</sup>, Simon A Jones<sup>1</sup>, Amir Jahic<sup>2</sup>, Lesley Heptinstall<sup>1</sup>, Karen Tylee<sup>1</sup>, William G Newman<sup>1,3</sup> and Christian Beetz<sup>2,3</sup>

Mucopolysaccharidosis I (MPS I) is a rare autosomal recessive multisystem lysosomal storage disorder. It is caused by biallelic loss-of-function variants in *IDUA*, encoding alpha-L iduronidase. Here, we describe an individual affected by MPS I due to a paternally inherited deletion of *IDUA* exons 1 and 2, *c.(?-88)\_(299+1\_300-1)del* and a whole-gene deletion of *IDUA* *(?-88)\_(?136?)del* secondary to maternal somatic mosaicism. We define a previously unreported mutational mechanism for this disorder.

*Human Genome Variation* (2016) 3, 16031; doi:10.1038/hgv.2016.31; published online 6 October 2016

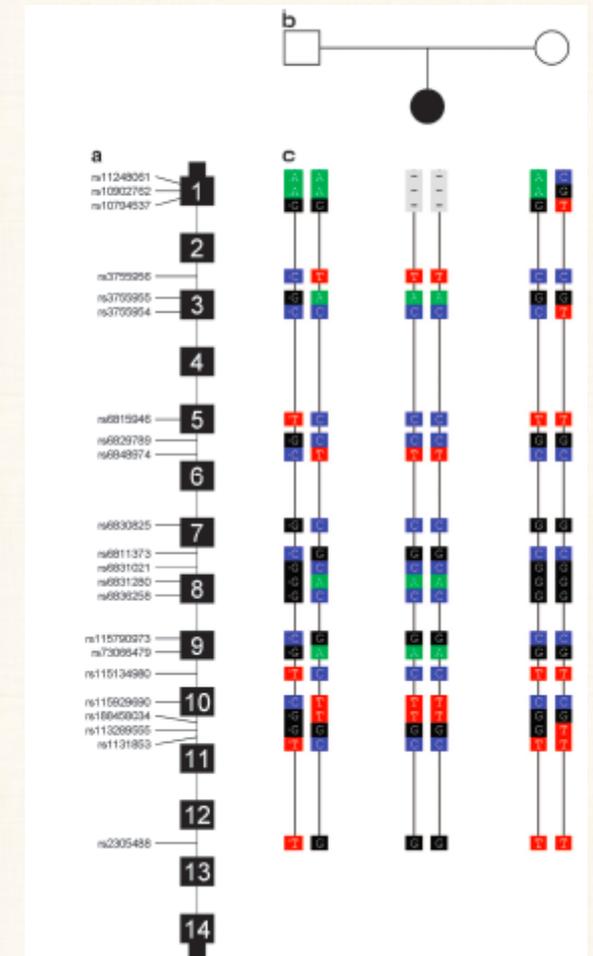
E' stato effettuato MLPA of *IDUA* nel bambino affetto.

E' stato vista la assenza di entrambe le copie degli esoni 1 e 2 e la perdita di una copia dei rimanenti 12 esoni del gene

L'MLPA ha determinato che il padre era eterozigote per la delezione degli esoni 1 e 2: *c.(?-88)\_(299+1\_300-1)del*.

La seconda analisi MLPA sui linfociti ha rivelato nella madre un mosaico somatico per la delezione dell'intero gene *IDUA*:

*c.[ = / ( ?\_88 ? )\_( \*136 ? ) del ]*



# Diagnosis di MPS

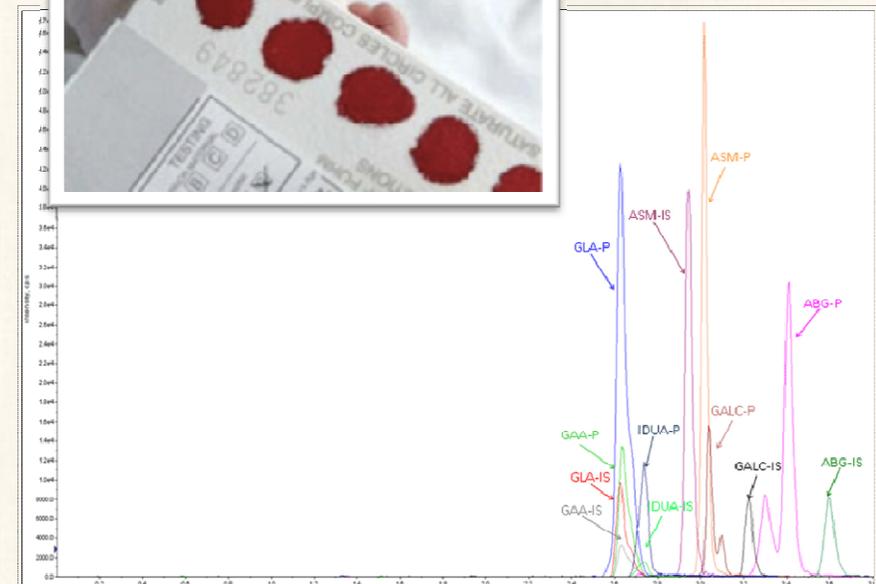
La diagnosi di MPS oggi si basa principalmente su test biochimici e molecolari

Di solito il primo passo nel percorso diagnostico è lo screening delle urine con valutazione quantitativa e qualitativa (mediante elettroforesi o cromatografia su strato sottile) di GAG urinari

I saggi per misurare l'attività di specifici enzimi nei leucociti o nei fibroblasti sono considerati il gold standard per una diagnosi definitiva.

Per alcuni enzimi sono disponibili anche analisi nel plasma.

In alcuni casi, è possibile eseguire il saggio enzimatico nelle macchie di sangue essiccato (DBS)



# Diagnosis di MPS

**Sebbene il riscontro di una deficienza enzimatica specifica nei leucociti o nei fibroblasti possa confermare la diagnosi, oggi viene sempre più raccomandata l'analisi molecolare del rispettivo gene**

La genetica molecolare ha diversi ruoli nella diagnosi delle MPS:

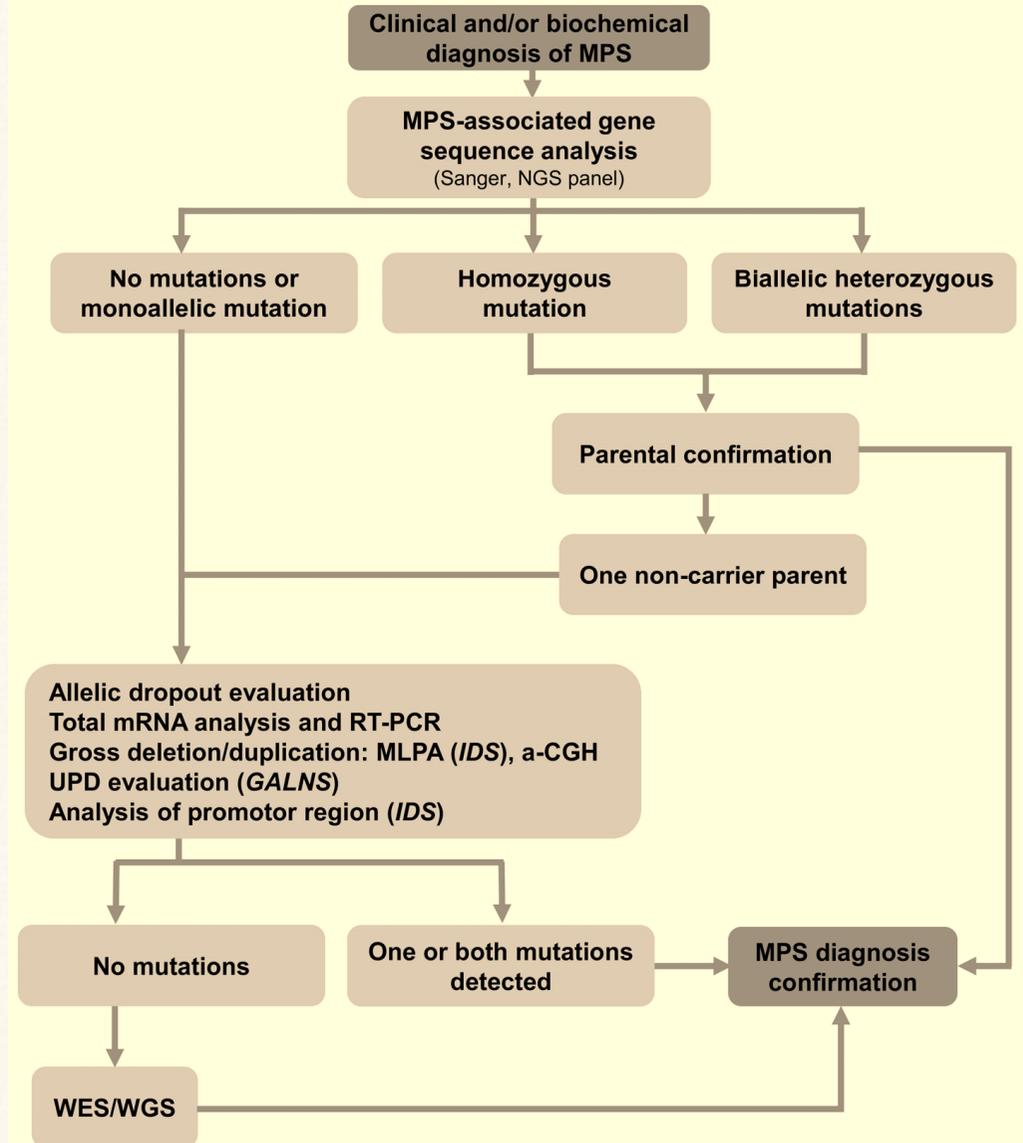
- quando lo screening (urina e DBS) e i risultati dell'analisi enzimatica sono inconcludenti;
- l'analisi molecolare è necessaria per discriminare anche la pseudodeficienza (quando l'attività enzimatica è carente solo in vitro) e lo stato di portatore, da casi affetti o normali;
- i risultati dei test enzimatici in DBS possono essere combinati con l'analisi molecolare per raggiungere una diagnosi finale;
- previsione del fenotipo, che può essere importante per le decisioni di gestione;
- identificazione dell'idoneità del paziente a una terapia specifica per la mutazione
- diagnosi prenatale

# Analisi molecolare nelle MPS

Sono disponibili diversi approcci molecolari per le indagini sulle varianti patogenetiche, sullo screening familiare e sulla consulenza genetica

**È particolarmente richiesto per la diagnosi di MPSPS**, che deriva dal deficit di proteina lisosomiale non enzimatica.

L'interpretazione dei risultati della genetica molecolare e la conclusione diagnostica dovrebbero prendere in considerazione i dati clinici.



## Indicazione generale e limiti delle diverse tecniche molecolari raccomandate per la diagnosi MPS

Tipo di metodo usato	Indicazione	Limitazioni
<b>Sanger sequencing</b>	Rilevare le varianti del DNA situate nelle regioni codificanti del gene insieme a piccoli segmenti di regioni introniche immediatamente adiacenti, incluse mutazioni puntiformi, piccole inserzioni / delezioni e varianti del sito di splicing.	Non si possono rilevare variazioni del numero di copie (CNV)
<b>RT-PCR</b>	Ideale per lo screening di specifiche mutazioni puntiformi o alcune delezioni/duplicazioni note	Richiede l'ottimizzazione per ogni locus analizzato Nuove varianti non note non vengono rilevate
<b>MLPA</b>	Per stabilire la presenza di CNV	È necessario confermare i risultati con altre tecniche (tecniche a-CGH e nuove tecnologie NGS) o con sonde diverse rispetto al primo mix di sonde, a causa dell'interferenza da polimorfismi.
<b>a-CGH</b>	Per rilevare delezioni e duplicazioni abbastanza grandi, riarrangiamenti sbilanciati e confini dei bp che non vengono rilevati dall'analisi della sequenza	Non rileverà riarrangiamenti bilanciati e sbilanciati a mosaico, con bassa percentuale
<b>NGS</b>	<p>Targeted/Exon Sequencing</p> <p>Rilevazione di mutazioni puntiformi e piccoli inserimenti e delezioni in molti geni differenti, in modo efficiente in termini di costi e tempo.</p>	<p>Contributo di sequenze di pseudogeni (es. MPS II) o altre sequenze altamente omologhe.</p> <p>Il sequenziamento di Sanger potrebbe essere necessario per la conferma della variante e per soddisfare gli standard di copertura.</p> <p>Traslocazioni o inversioni, amplificazioni, non vengono rilevate</p>
	<p>Genome Sequencing</p> <p>Rilevazione di mutazioni puntiformi e piccoli inserimenti e delezioni in molti geni diversi, in modo efficiente in termini di costi e tempo. Sono anche rilevati riarrangiamenti complessi, bilanciati e sbilanciati</p>	Le nostre conoscenze sull'interpretazione di varianti non codificanti

# Next-Generation Sequencing (NGS)

DE GRUYTER

J Pediatr Endocrinol Metab 2017; 30(4): 463–469

## Case Report

Qingwen Zeng, Yanjie Fan, Lili Wang, Zhuo Huang, Xu

## Molecular defects identified exome sequencing in a child mucopolysaccharidosis IIIB



Expert Review of Molecular Diagnostics

Accepted author version posted online: 17 Sep 2018.



Taylor & Francis  
Taylor & Francis Group

ISSN: 1473-7159 (Print) 1744-8352 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/iero20>

European Journal of Human Genetics (2012) 20, 58–63

© 2012 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 1018-4813/12

[www.nature.com/ejhg](http://www.nature.com/ejhg)

## ARTICLE

## A mild form of Mucopolysaccharidosis IIIB diagnosed with targeted next-generation sequencing of linked genomic regions

Kaja K Selmer<sup>1,7</sup>, Gregor D Gilfillan<sup>\*1,7</sup>, Petter Strømme<sup>2</sup>, Robert Lyle<sup>1</sup>, Timothy Hughes<sup>1</sup>, Hanne S Hjorthaug<sup>1</sup>, Kristin Brandal<sup>1</sup>, Sigve Nakken<sup>3</sup>, Doriana Misceo<sup>1</sup>, Thore Egeland<sup>4</sup>, Ludvig A Munthe<sup>5</sup>, Sigrun K Braekken<sup>6</sup> and Dag E Undlien<sup>1</sup>

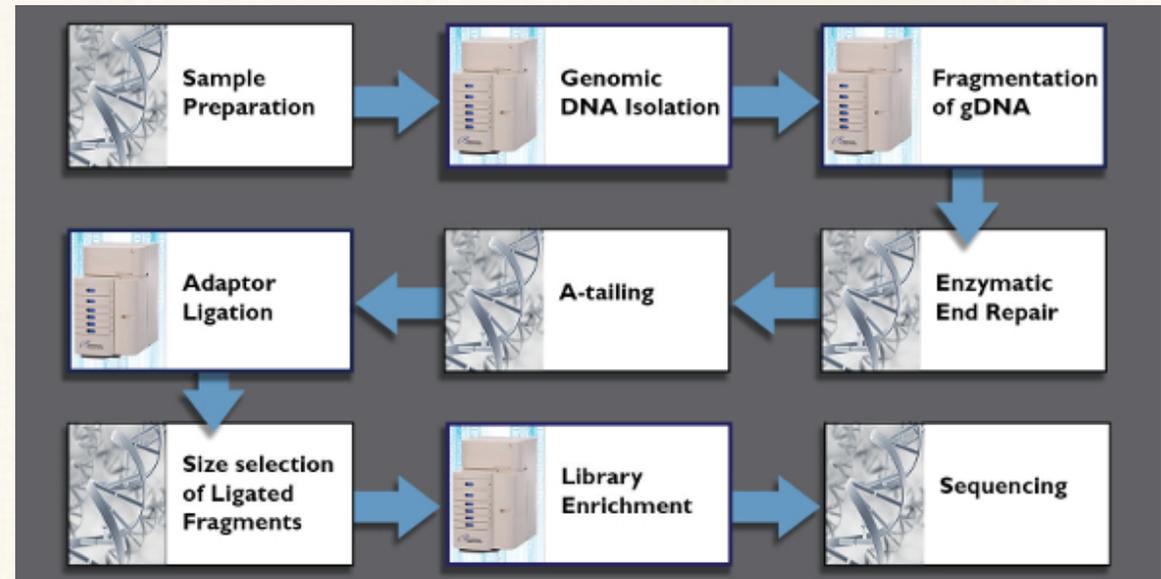
Recent advances in molecular testing to improve early diagnosis in children with mucopolysaccharidoses

## Next-Generation Sequencing (NGS)

Questa tecnologia si sta dimostrando un potente approccio per superare l'ampia eterogeneità **clinica** e genetica delle MPS, consentendo lo screening simultaneo di diversi geni correlati alle diverse condizioni con anche ampio risparmio economico nelle analisi genetiche.

### Le applicazioni NGS includono:

- sequenziamento dell'insieme amplificato da PCR di specifiche regioni genomiche (pannello genico NGS)
- il sequenziamento di intero esoma (WES)
- il sequenziamento dell'intero genoma (WGS)



## NGS gene panel

Può includere tutti o alcuni dei geni delle MPS e potrebbe essere un'opzione per l'identificazione della mutazione, anche se è già stata ottenuta una diagnosi biochimica specifica

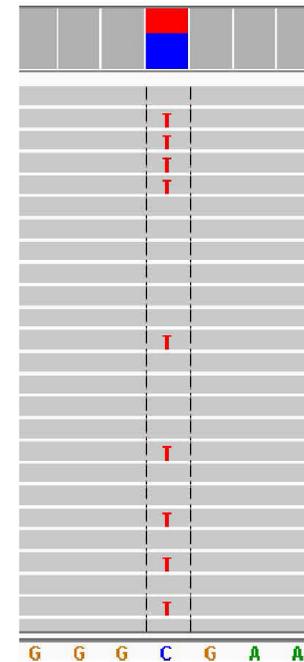
Type	Eponym	Gene
I	Hurler (IH)	<i>IDUA</i>
	Scheie (IS)	
	Hurler-Scheie (IH/S)	
II	Hunter	<i>IDS</i>
III	Sanfilippo A	<i>SGSH</i>
	Sanfilippo B	<i>NAGLU</i>
	Sanfilippo C	<i>HGSNAT</i>
	Sanfilippo D	<i>GNS</i>
IV	Morquio A	<i>GALNS</i>
	Morquio B	<i>GLB1</i>
VI	Maroteaux-lamy	<i>ARSB</i>
VII	Sly	<i>GUSB</i>
IX	Natowicz	<i>HYAL1</i>
MPS/PS	Mucopolysaccharidosis-plus syndrome	<i>VPS33A</i>

### NGS

MPS IIIB (*NAGLU*)

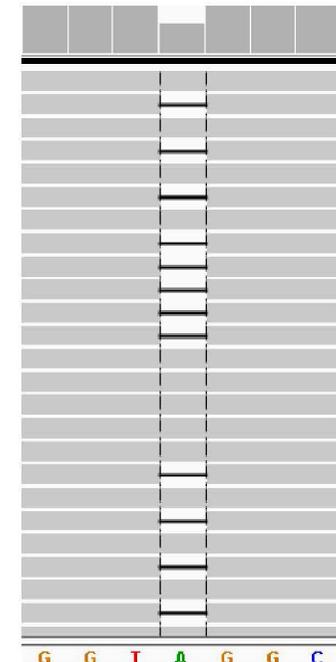
c.607C>T (p.Arg203Ter)

Coverage: 646X



c.1317delA (p.Gly440fs)

Coverage: 1241X



# NGS gene panel

E s e m p i o n e l l a M P S I I I



un bambino con un quadro clinico suggestivo, aumento dei GAG urinari, ma senza analisi enzimatica disponibile ha avuto la diagnosi finale definita dopo analisi di un pannello che include tutti e 4 i geni MPS III, per la determinazione del sottotipo e MPSPS, poiché questo disturbo ha anche un HS elevato.

**Questa tecnologia potrebbe essere applicata per differenziare MPS con fenotipi simili ma diversi genotipi, come MPS I e MPS II, utilizzando un pannello genico comprendente i geni *IDS* e *IDUA***

## NGS gene panel

Recentemente, un panel mirato per 57 geni lisosomali che è stato in grado di rilevare anche microdelezioni geniche non evidenziate dal sequenziamento di Sanger e

un pannello con 891 geni coinvolti nelle vie lisosomiali, endocitiche e autofagiche

Tuttavia, il test genetico mirato non è sempre vantaggioso, principalmente nei fenotipi più lievi o atipici.

In questo scenario, un approccio anche più ampio del «gene panel» potrebbe essere molto utile, consentendo di espandere lo spettro fenotipico di queste condizioni. Ad esempio, il coinvolgimento del sistema nervoso centrale è predominante nelle MPS I, II, III e VII, che giustificano l'inclusione anche di geni associati a problemi neurologici; mentre MPS IV, VI e VII potrebbero essere inclusi in un pannello di geni associati a displasia scheletrica.

Fernández-Marmiesse et al. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2014, 9:59  
<http://www.orphandis.com/content/9/1/59>



RESEARCH

Open Access

### Assessment of a targeted resequencing assay as a support tool in the diagnosis of lysosomal storage disorders

Ana Fernández-Marmiesse<sup>1\*</sup>, Marcos Morey<sup>1</sup>, Merce Pineda<sup>2</sup>, Jesús Eiris<sup>3</sup>, María Luz Couce<sup>1</sup>, Manuel Castro-Gago<sup>3</sup>, Jose Maria Fraga<sup>1</sup>, Lucia Lacerda<sup>4</sup>, Sofia Gouveia<sup>1</sup>, Maria Socorro Pérez-Poyato<sup>5</sup>, Judith Armstrong<sup>6</sup>, Daisy Castiñeiras<sup>1</sup> and Jose A Cocho<sup>1</sup>

CLINICAL RESEARCH PAPER

Autophagy 11:6, 928–938; June 2015; Published with license by Taylor & Francis Group, LLC

### Lysoplex: An efficient toolkit to detect DNA sequence variations in the autophagy-lysosomal pathway

Giuseppina Di Fruscio,<sup>1,2,†</sup> Angela Schulz,<sup>3,†,\*</sup> Rossella De Cegli,<sup>1</sup> Marco Savarese,<sup>2</sup> Margherita Mutarelli,<sup>1</sup> Giancarlo Parenti,<sup>1,4</sup> Sandro Banfi,<sup>1,2</sup> Thomas Braulke,<sup>3</sup> Vincenzo Nigro,<sup>1,2</sup> and Andrea Ballabio<sup>1,4,5,6,\*</sup>

# Whole Exome Sequencing (WES)

WES è oggi una procedura diagnostica standard in strutture genetiche, e poiché i costi continuano a diminuire, deve diventare la scelta primaria per la diagnosi molecolare in molte condizioni:

- 1) Utilità nella ricerca di nuovi geni associati a condizioni rare, come il tipo MPS individuato recentemente (MPSPS);
- 2) espandere lo spettro fenotipico riconosciuto anche delle malattie ben note
- 3) per chiarire il fenotipo complesso riportato da diversi gruppi, poiché la conferma genetica nei geni MPS coinvolti in alcuni pazienti potrebbe chiarire definitivamente la «natura oscura» della malattia
- 4) come strumento diagnostico di primo livello per MPS, con successivo test biochimico tradizionale (dosaggio GAG e dosaggio enzimatico) per confermare la diagnosi molecolare, in un'inversione dell'algoritmo diagnostico tradizionale, che potrebbe essere una tendenza per il futuro in quanto il costo del sequenziamento continua a diminuire e sono sempre meno i laboratori che possono continuare ad eseguire sofisticate analisi enzimatiche

## W E S

Stabilire una diagnosi precoce e affidabile è cruciale per assicurare la gestione appropriata per la cura e il trattamento specifico di malattia quando disponibile, come la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) per MPS tipo I (laronidasi), II (idursulfasi), IV A (elosulfase alfa), VI (galsulfase) e VII (vestronidasi alfa).

**Il trattamento precoce è essenziale per un migliore risultato di queste terapie che hanno il potenziale di modificare la storia clinica naturale e contribuire a ridurre la morbilità di questi disturbi.**

Nel caso di MPS I, il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) è indicato nei bambini con diagnosi precoce in cui è previsto un fenotipo grave (Hurler), anche se può essere inefficace in molti altri (MPS II, III)

## What is MPS I (HURLER, HURLER-SCHEIE, SCHEIE SYNDROME)

MPS I is a mucopolysaccharide disease with 3 types:  
Hurler, Scheie, and Hurler-Scheie

### What Causes this Disease?



- The enzyme "alpha-L-iduronidase" is missing
- Mucopolysaccharides remain in the body causing progressive damage

### How Common are these Diseases?



- 1 in 100,000 births have Hurler
- 1 in 500,000 births have Scheie
- 1 in 115,000 births have Hurler/Scheie
- 1 in 25,000 births will result in some form of MPS

### What are the treatments?

- There is no cure
- Bone marrow transplantation and enzyme replacement therapy (ERT) can help



# CONCLUSIONI

Nel prossimo futuro sono previsti vari programmi di screening neonatale (NBS) per le MPS attraverso analisi molecolari.

Le analisi molecolari permetteranno la previsione della prognosi e un trattamento mirato (es. Read-through per mutazioni non-sense e terapia con chaperon per mutazioni che portano alla perdita di stabilità proteica).

Anche se le MPS sono caratterizzate da un'elevata eterogeneità allelica, le analisi molecolari aiutano anche l'identificazione delle varianti di pseudodeficienza e combinate con le valutazioni di biomaker che saranno l'approccio goldstandard per l'era omica

## Putting genome-wide sequencing in neonates into perspective

Eline (P. J.) van der Sluijs, MSc<sup>1</sup>, Emmelien Aten, MD, PhD<sup>1</sup>,  
Daniela Q. C. M. Barge-Schaapveld, MD, PhD<sup>1</sup>, Emilia K. Bijlsma, MD, PhD<sup>1</sup>,  
Regina Bökenkamp-Gramann, MD, PhD<sup>2</sup>, Laura Donker Kaat, MD, PhD<sup>1,3</sup>,  
Remco van Doorn, MD, PhD<sup>4</sup>, Dietje Fransen van de Putte, MD, PhD<sup>1</sup>, Arie van Haeringen, MD<sup>1</sup>,  
Arend D. J. ten Harkel, MD, PhD<sup>2</sup>, Yvonne Hilhorst-Hofstee, MD, PhD<sup>1</sup>, Mariette J. V. Hoffer, PhD<sup>1</sup>,  
Nicolette S. den Hollander, MD, PhD<sup>1</sup>, Yvette van Ierland, MD, PhD<sup>1</sup>, Marije Koopmans, MD, PhD<sup>1</sup>,  
Marjolein Kriek, MD, PhD<sup>1</sup>, Setareh Moghadasi, MD<sup>1</sup>, Esther A. R. Nibbeling, PhD<sup>1</sup>,  
Cacha M. P. C. D. Peeters-Scholte, MD, PhD<sup>2</sup>, Thomas P. Potjer, MD<sup>1</sup>, Maartje van Rij, MD, PhD<sup>1</sup>,  
Claudia A. L. Ruivenkamp, PhD<sup>1</sup>, Julie W. Rutten, MD, PhD<sup>1</sup>, Sylke J. Steggerda, MD, PhD<sup>6</sup>,  
Manon Suerink, MD<sup>1</sup>, Ratna N. G. B. Tan, MD<sup>6</sup>, Karin van der Tuin, MD<sup>1</sup>, Remco Visser, MD, PhD<sup>6</sup>,  
Anne-Sophie van der Werf -'t Lam, MD<sup>1</sup>, Monique Williams, MD, PhD<sup>7</sup>, Ruben Witlox, MD<sup>6</sup> and  
Gijs W. E. Santen, MD, PhD<sup>1</sup>

Submitted 17 April 2018; accepted: 23 August 2018  
Published online: 05 October 2018

GENETICS in MEDICINE | Volume 0 | Number 0 | Month

**Purpose:** Several studies have reported diagnostic yields up to 57% for rapid exome or genome sequencing (rES/GS) as a single test in neonatal intensive care unit (NICU) patients, but the additional yield of rES/GS compared with other available diagnostic options still remains unquantified in this population.

**Methods:** We retrospectively evaluated all genetic NICU consultations in a 2-year period.

**Results:** In 132 retrospectively evaluated NICU consultations 27 of 32 diagnoses (84.4%) were made using standard genetic workup. Most diagnoses (65.6%) were made within 16 days. Diagnostic ES

yield was 5/29 (17.2%). Genetic diagnoses had a direct effect on clinical management in 90.6% (29/32) of patients.

**Conclusions:** Our study shows that exome sequencing has a place in NICU diagnostics, but given the associated costs and the high yield of alternative diagnostic strategies, we recommend to first perform clinical genetic consultation.

*Genetics in Medicine* (2018) <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0293-0>

**Keywords:** ES; NICU; clinical geneticists; rapid; sequencing

COMMENTARY

HEALTH POLICY

# Whole-Genome Sequencing in Newborn Screening

Friedman *et al.* *BMC Medical Genomics* (2017) 10:9  
DOI 10.1186/s12920-017-0247-4

BMC Medical Genomics

Bartha

RESEARCH ARTICLE

Open Access



## Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations

Jan M. Friedman<sup>1,2\*</sup>, Martina C. Cornel<sup>3,4</sup>, Aaron J. Goldenberg<sup>5</sup>, Karla J. Lister<sup>6</sup>, Karine Sénécal<sup>7</sup>, Danya F. Vears<sup>8</sup>,  
the Global Alliance for Genomics and Health Regulatory and Ethics Working Group Paediatric Task Team



Ficicioglu 2017 *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 3: a001842

## New tools and approaches to newborn screening: ready to open Pandora's box?

Can Ficicioglu

New investigative thinking is needed to transform genomics and metabolomics into NBS, while not forgetting the basic rules of Wilson and Jungner criteria.

WES/WGS will almost certainly generate many incidental findings that will compel state NBS programs carefully to distinguish between conditions that should—or should not—be reported out without parental consent. **Mandatory screening should be preserved for disorders that meet the criteria of direct benefit to infants.** Many disorders including creatine deficiency syndromes, Wilson disease, and metachromatic leukodystrophy that currently cannot be screened because of the lack of a reliable biomarker will be detected via WES/WGS-based NBS. **Detecting these disorders, which are present in childhood and are treatable,** have great direct benefits to infants and their families. Development of new biomarkers will provide core knowledge to shape clinical decisions, help newborn screened cases be defined and classified efficiently, and monitor treatment response more effectively.

**NBS is a system, not a test.** The addition of new tests to screening panels is taking place without the funding or infrastructure needed to provide adequate follow-up care and clinical



# HHS Public Access

Author manuscript

*Pediatrics*. Author manuscript; available in PMC 2016 July 11.

Published in final edited form as:

*Pediatrics*. 2016 January ; 137(Suppl 1): S8–15. doi:10.1542/peds.2015-3731D.

## Whole-Genome Screening of Newborns? The Constitutional Boundaries of State Newborn Screening Programs

Jaime S. King, PhD, JD<sup>a,b</sup> and Monica E. Smith, JD<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Hastings College of the Law, University of California, San Francisco, California

<sup>b</sup>UCSF/UC Hastings Consortium for Law, Science and Health Policy, San Francisco, California

[Translational Informatics in Smart Healthcare](#) pp 47-61 | [Cite as](#)

## Newborn Screening in the Era of Precision Medicine

Authors [Authors and affiliations](#)

Lan Yang, Jiajia Chen, Bairong Shen

Chapter  
First Online: 16 September 2017

2 6

Part of the [Advances in Experimental Medicine and Biology](#)

[Hum Mutat.](#) 2018 Jan;39(1):167-171. doi: 10.1002/humu.23356.  
Epub 2017 Nov 6.

### METHODS



## Whole exome and whole genome sequencing with dried blood spot DNA without whole genome amplification

Laia Bassaganyas<sup>1\*</sup> | George Freedman<sup>2\*</sup> | Dedeepya Vaka<sup>3</sup> | Eunice Wan<sup>3</sup> |  
Richard Lao<sup>3</sup> | Flavia Chen<sup>3</sup> | Mark Kvale<sup>3</sup> | Robert J. Currier<sup>4</sup> | Jennifer M. Puck<sup>2,3</sup> |  
Pui-Yan Kwok<sup>1,3,5</sup>



# **Ottimizzazione e validazione dello screening neonatale mediante tecnica di sequenziamento di nuova generazione (NGS)**

**Lo screening neonatale in Campania**