

# Sàng lọc sơ sinh bệnh rối loạn dự trữ lysosme

Rối loạn dự trữ lysosome (LSD)

Grace Chua

Tháng 5, 2018

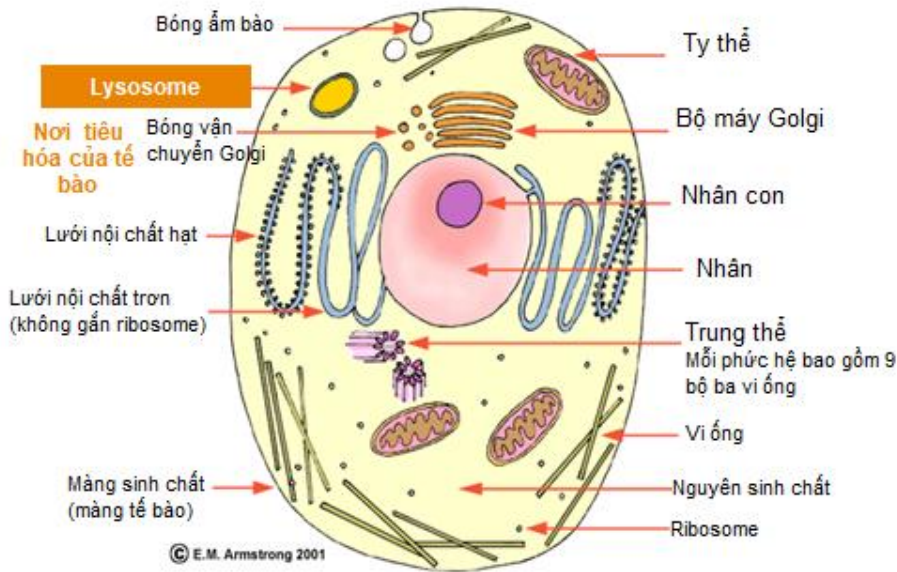


# Nội dung

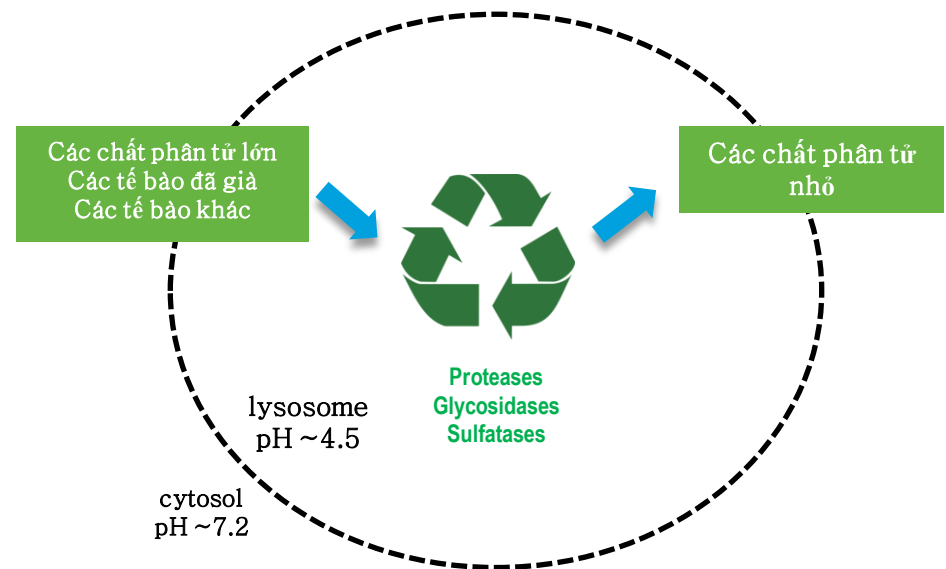
1. Lysosome - nhà máy xử lý rác của tế bào
2. Rối loạn lưu trữ lysosome (LSD) là gì?
3. Nhấn mạnh bệnh Pompe, bệnh Fabry và bệnh Gaucher
  - Tại sao cần sàng lọc sơ sinh LSD
4. Các phương thức điều trị có sẵn
  - Các bệnh LSD triển vọng có thể triển khai sàng lọc sơ sinh
5. Chiến lược trong công tác sàng lọc LSD
6. Những kinh nghiệm và kết quả từ các PTN sàng lọc LSD
  - Tình hình sàng lọc LSD trên toàn cầu
7. Tổng kết

# Lysosome là gì?

Lysosome là 1 bào quan của tế bào



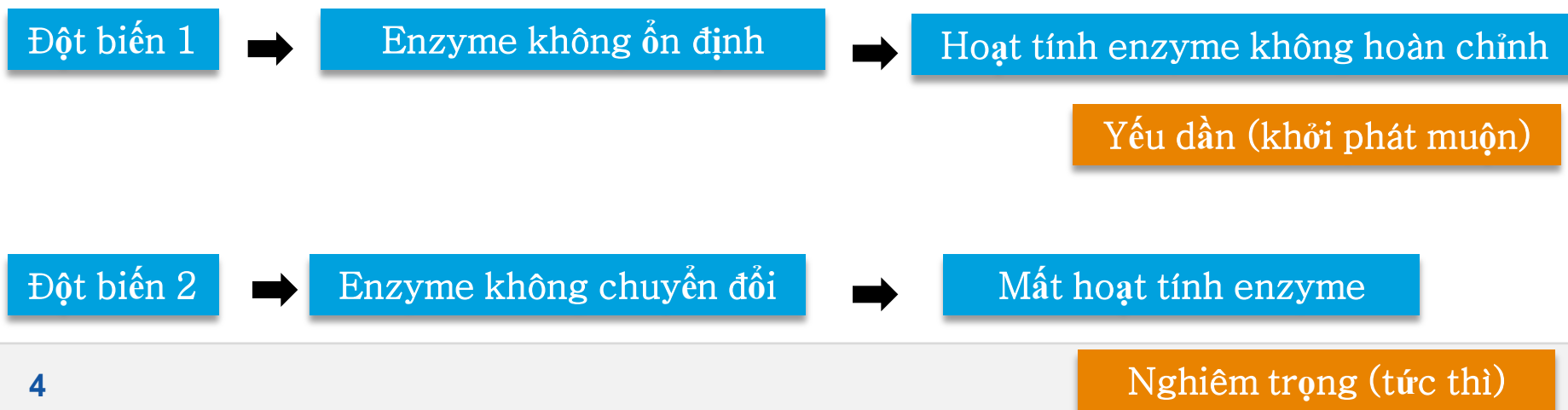
Lysosome được coi là “nhà máy xử lý rác” của tế bào



Các sản phẩm cuối cùng hoặc được tái sử dụng bởi các tế bào hoặc được bài tiết ra khỏi cơ thể

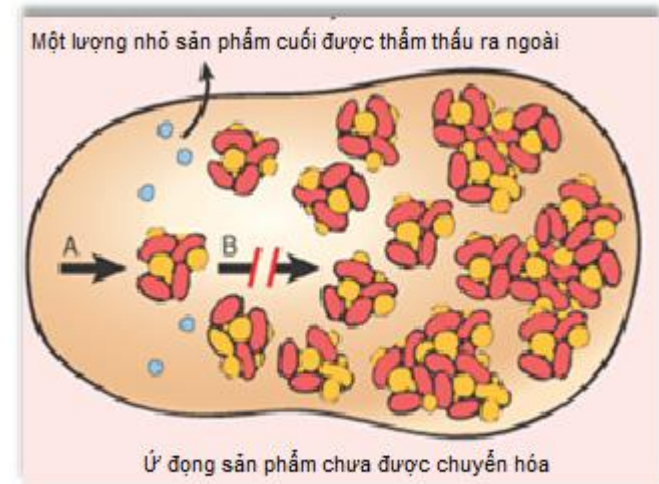
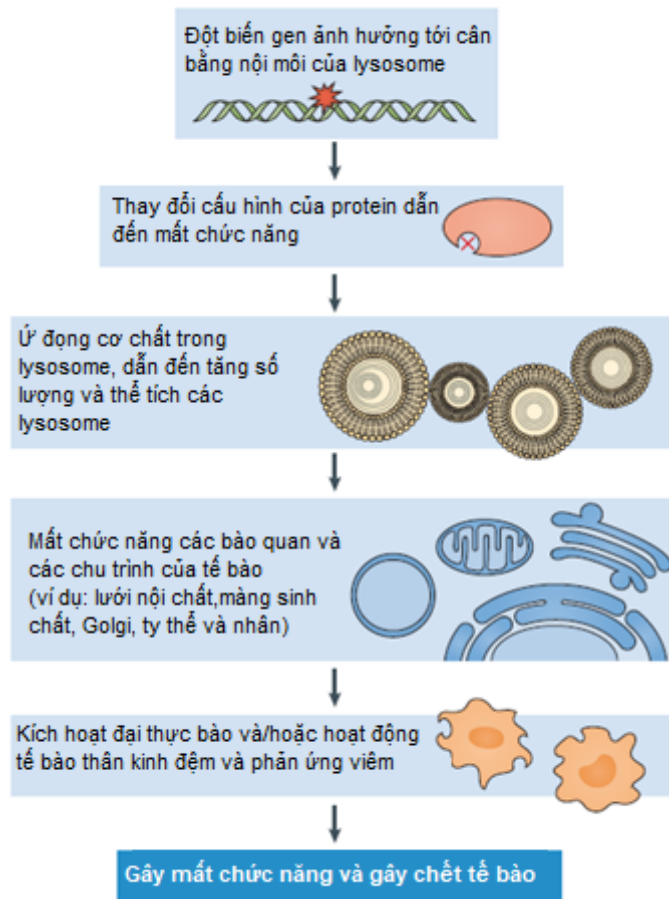
# RỐI LOẠN LƯU TRỮ LYSOSOME (LSD) LÀ...

- Một nhóm khoảng 50 rối loạn hiếm gặp, với một tỉ lệ kết hợp là 1:5,000 trẻ
- Là một rối loạn di truyền
- Người mang bệnh có hoạt tính enzyme thấp, hoặc mất hoạt tính
- Hầu hết là bất thường NST thường, một số liên quan đến NST X (VD: Fabry)
- Đột biến ảnh hưởng tới mức độ nghiêm trọng của LSD
- Có thể xuất hiện khi trưởng thành hoặc xuất hiện đột ngột dẫn đến tử vong ở thai nhi
- Kiểu hình không thể dự đoán được từ kiểu gen
- 10 LSD có thể điều trị bằng thuốc (số khác được điều trị bằng ghép tủy), nhưng LSD trên hệ thần kinh thì khả năng phục hồi chức năng kém
- Các triệu chứng có thể bao gồm co giật, mất trí nhớ, gan lách sưng to và rối loạn hình thành xương



# Rối loạn lưu trữ Lysosome là gì?

## LSD tác động lên chức năng bình thường của tế bào



Platt F 2017

# Các LSD điển hình để làm sàng lọc sơ sinh

## Bệnh Pompe 1:40,000

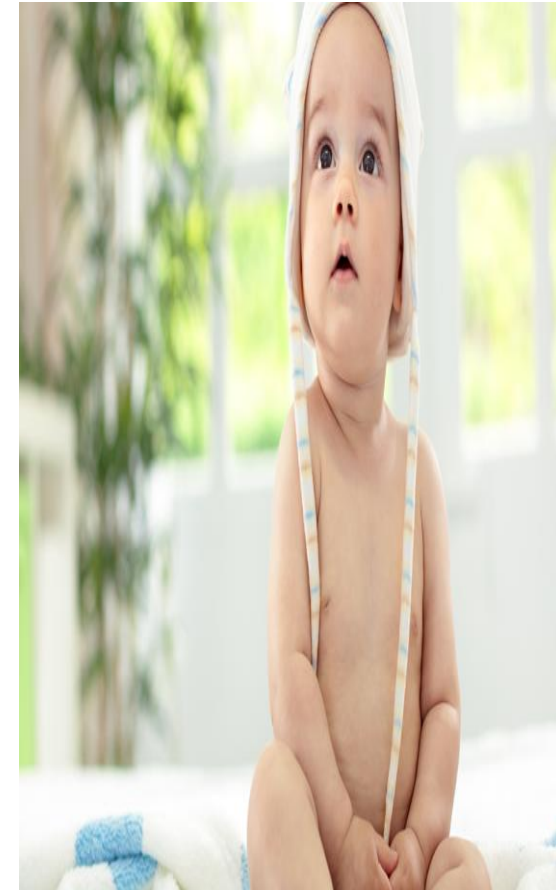
- Bệnh rối loạn lưu trữ glycogen loại II, còn được gọi là bệnh Pompe, là một rối loạn chuyển hóa lặn trên NST thường gây tổn thương các tế bào thần kinh và tế bào cơ xương trên khắp cơ thể
- Triệu chứng: Trẻ mềm yếu (nhược cơ, yếu cơ) khó thở, cho ăn khó/ chậm phát triển, nhiễm trùng đường hô hấp
- ERT, 2006

## Bệnh Fabry 1:40,000\*

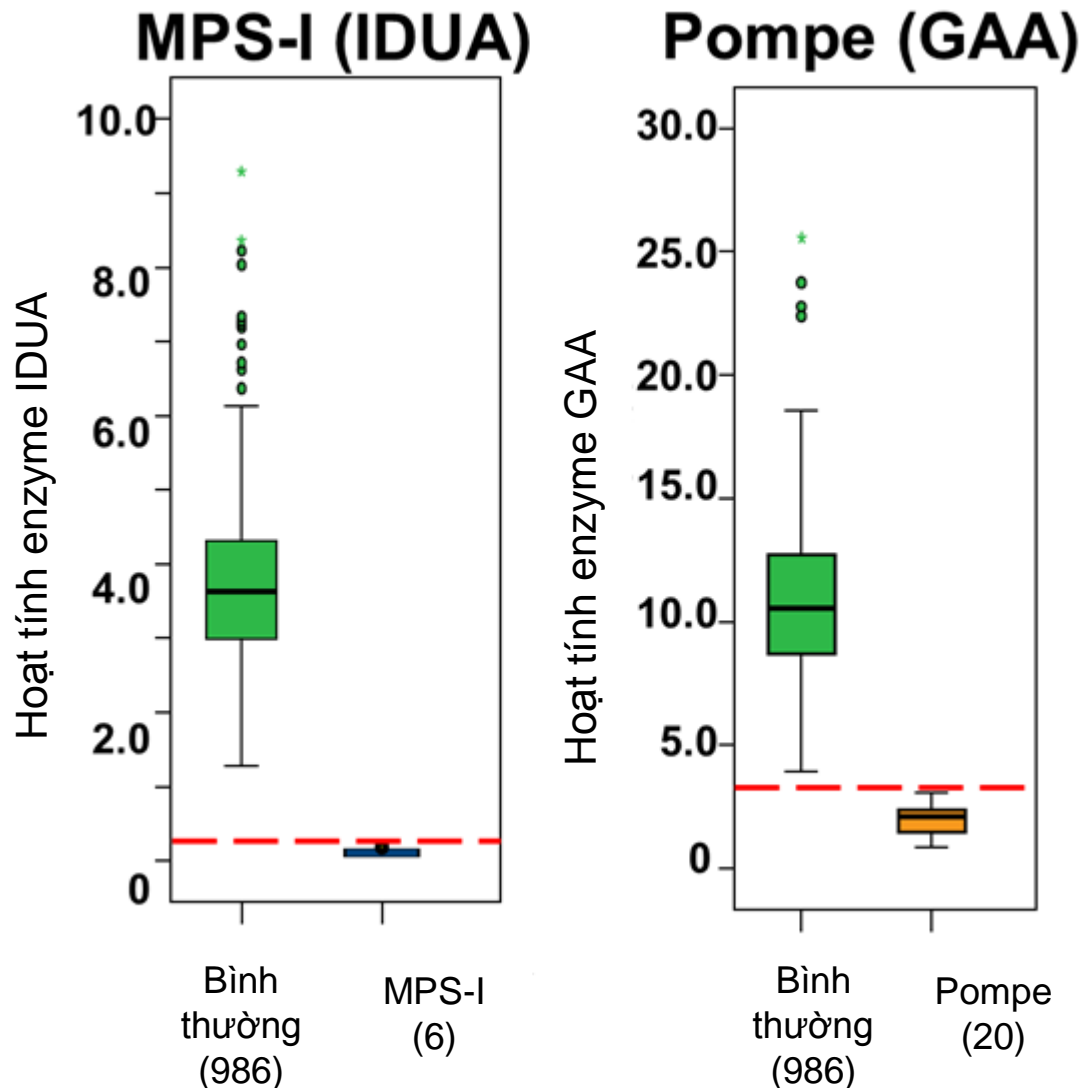
- Là một bệnh di truyền liên quan đến NST X
- Đột biến trên gen GLA dẫn đến thiếu hụt  $\alpha$ -Galactosidase. Và dẫn đến tích lũy globotriaosylceramide (GL-3)
- Triệu chứng: phì đại tim, tiếng thổi tim, suy thận không rõ nguyên nhân, đau kiểu Fabry (đau đặc biệt ở tay và chân), đau dạ dày, buồn nôn, nôn
- ERT, 2003

## Bệnh Gaucher 1:57,000

- Một trong những rối loạn lưu trữ lysosome phổ biến nhất
- Loại 1, 2, 3
- Không đủ enzyme glucocerebrosidase (GCCase) để phá vỡ các liên kết glucocerebroside trong phân tử lipid, chất béo trong cơ thể hoặc tế bào
- Triệu chứng: Gan lách sưng to, thường xuất hiện lúc mới sinh, rối loạn chức năng gan; biến dạng xương, đau; biến chứng thần kinh nghiêm trọng
- ERT, 1991 và SRT, 2002

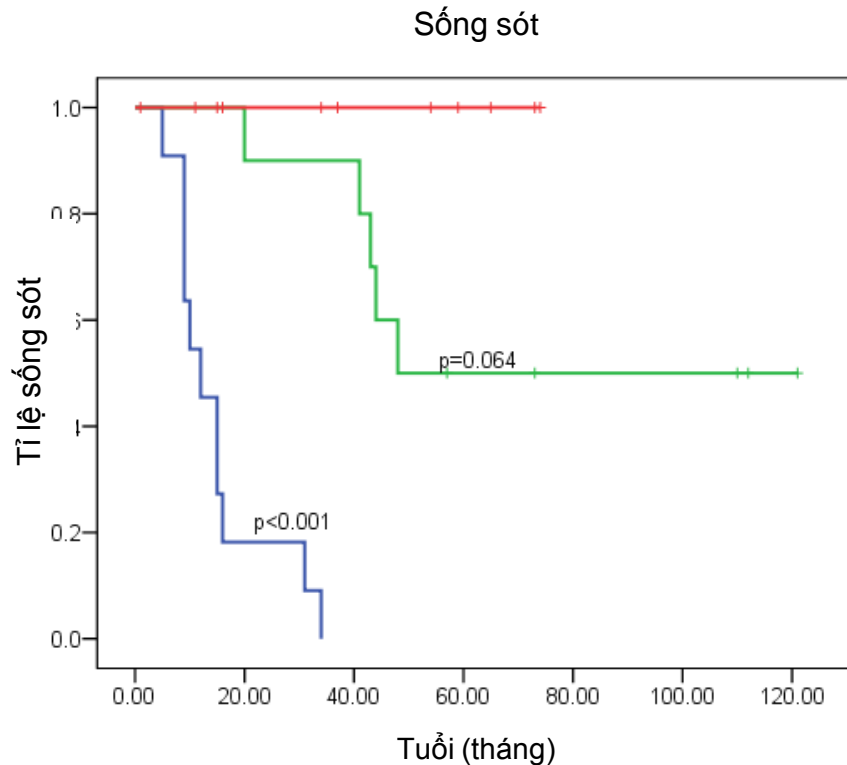


# Bệnh MPS-I và bệnh Pompe – Người bình thường và người bị ảnh hưởng



7 Sự tách biệt rõ ràng giữa các nhóm bình thường và nhóm mang bệnh là điều kiện tiên quyết cho mục đích sàng lọc.

# Phát hiện sớm là rất quan trọng – BỆNH POMPE



## Lợi ích của sàng lọc:

- Xác định các đối tượng bị ảnh hưởng càng sớm càng tốt
- Cung cấp các giải pháp hỗ trợ sinh sản để phòng ngừa bệnh cho những lần sinh tiếp theo.

- Sàng lọc sơ sinh – NBS
- Đối chứng lâm sàng
- Nhóm chưa được điều trị trước đó



# Liệu pháp điều trị LSD – Kết quả thu được tốt hơn khi được điều trị sớm

ERT

- Liệu pháp thay thế enzyme – đưa enzyme thiếu hụt qua đường tĩnh mạch

SRT

- Liệu pháp giảm cơ chất – uống các phân tử có khả năng giảm lượng cơ chất dư thừa

HSCT

- Ghép tế bào gốc tạo máu

GT

- Liệu pháp gen



# Các bệnh LSD triển vọng để làm sàng lọc sơ sinh

Rối loạn	Tỉ lệ	Liệu pháp điều trị được phê chuẩn	Điều trị trên lâm sàng
Bệnh Pompe	1 : 40,000	ERT, 2006	GT, pha I/II
Bệnh MPS-I	1 : 100,000	ERT, 2003	
Bệnh Fabry	1 : 40,000*	ERT, 2003	HSCT, pha I/SRT, pha II
Bệnh Gaucher	1 : 57,000	ERT, 1991/SRT, 2002	GT, pha I
Bệnh Krabbe	1 : 100,000		HSCT ?
Bệnh Niemann-Pick A/B	1 : 250,000		ERT, pha III
Bệnh MPS-II	1 : 136,000	ERT, 2006	GT, pha I/II
Bệnh MPS-IVA	1 : 250,000	ERT, 2014	
Bệnh MPS-VI	1 : 300,000	ERT, 2005	

\*trẻ nam

# Chiến lược sàng lọc LSD

## Đo trực tiếp hoạt tính enzyme

- Phương pháp đo huỳnh quang và MSMS

## Đo trực tiếp dư lượng enzyme trong lysosome

- Bỏ sót các trường hợp enzyme dư lượng lớn nhưng bị bất hoạt (Ví dụ: 10-20% trường hợp MPS-II)

## Định lượng chỉ tiêu sinh học (biomarker) của LSD

- Định lượng các chất tích lũy do thiếu hụt enzyme lysosome
- Các chất có thể không tích lũy trong vòng 1-3 ngày sau sinh
- Dự định sử dụng trong các xét nghiệm thứ cấp

## Giải trình tự protein trong lysosome

- Đột biến gây bệnh chưa biết
- Quá chậm và chi phí cao
- Thiếu kiến thức về mối quan hệ giữa kiểu gen và kiểu hình

# Định lượng trực tiếp hoạt độ enzyme bằng phương pháp khối phổ và đo huỳnh quang

- Nhược điểm của phương pháp đo huỳnh quang là không chạy được nhiều chỉ tiêu cùng một lúc

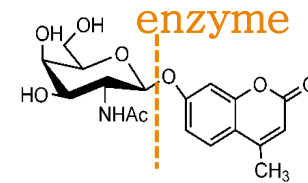
Điều này sẽ gây ra một số bất lợi khi số lượng các LSD được sàng lọc ngày càng tăng

- Ưu điểm của MS/MS có thể chạy nhiều chỉ tiêu cùng lúc và dải tương phản động cao

Có thể được phân tích nhiều enzyme trong một mẫu máu khô

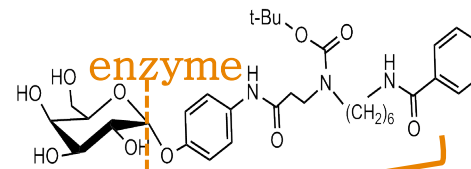
- Không phải tất cả các enzyme lysosome đều được phân tích bằng phương pháp huỳnh quang

Ví dụ: Tất cả các cơ chất huỳnh quang trong bệnh Niemann-Pick-A/B đều dẫn đến kết quả âm tính giả vì một đột biến dẫn đến việc đọc kết quả hoạt độ enzyme cao hơn so với cơ chất sphingomyelin tự nhiên



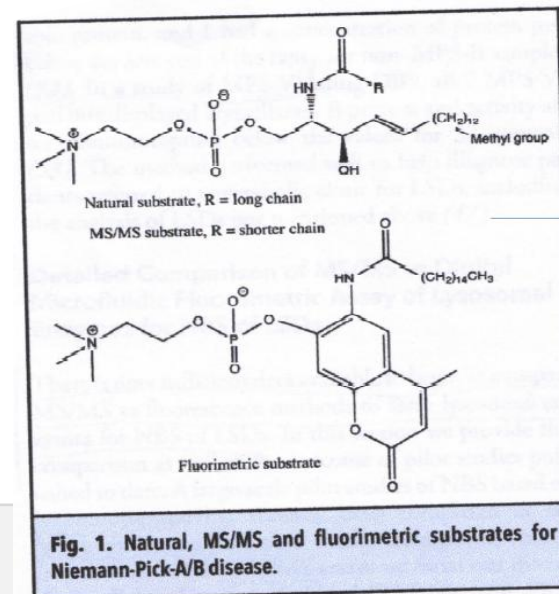
Tín hiệu huỳnh quang  
hiện tại không thể  
ghép kênh

tất cả các cơ chất tạo ra cùng một sản phẩm enzyme huỳnh quang



Fabry

Cấu trúc đa dạng cho  
phép ghép kênh



Cơ chất MSMS gần giống với tự nhiên, chỉ khác về chiều dài chuỗi acyl béo

Fig. 1. Natural, MS/MS and fluorimetric substrates for Niemann-Pick-A/B disease.

# Bài báo ủng hộ phương pháp MSMS

*Clin Chem.* 2017 Jul;63(7):1271-1277. doi: 10.1373/clinchem.2016.269027. Epub 2017 Apr 27.

## Mass Spectrometry but Not Fluorimetry Distinguishes Affected and Pseudodeficiency Patients in Newborn Screening for Pompe Disease.

Liao HC<sup>1,2</sup>, Chan MJ<sup>3</sup>, Yang CF<sup>4,5</sup>, Chiang CC<sup>3</sup>, Niu DM<sup>2,4</sup>, Huang CK<sup>4</sup>, Gelb MH<sup>6</sup>.

### ⊕ Author information

#### Abstract

**BACKGROUND:** Deficiency of the lysosomal enzyme acid  $\alpha$ -glucosidase (GAA) causes Pompe disease. Newborn screening for Pompe disease is ongoing, and improved methods for distinguishing affected patients from those with pseudodeficiency, especially in the Asian population, would substantially reduce the number of patient referrals for clinical follow-up.

**METHODS:** We measured the enzymatic activity of GAA in dried blood spots on newborn screening cards (DBS) using a tandem mass spectrometry (MS/MS) assay. The assay displayed a relatively large analytical range compared to the fluorimetric assay with 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -glucoside. DBS from newborns confirmed to have infantile-onset Pompe disease (IOPD, n = 11) or late-onset Pompe disease (LOPD) (n = 12) and those from patients bearing pseudodeficiency alleles with or without Pompe mutations, or Pompe disease carriers (n = 230) were studied.

**RESULTS:** With use of the MS/MS GAA assay in DBS, 96% of the pseudodeficiency newborns and all of the Pompe disease carriers were well separated from the IOPD and LOPD newborns. The fluorimetric assay separated <10% of the pseudodeficiencies from the IOPD/LOPD group.

**CONCLUSIONS:** The relatively large analytical range MS/MS GAA assay but not the fluorimetric assay in DBS provides a robust approach to reduce the number of referrals and should dramatically facilitate newborn screening of Pompe disease.

© 2017 American Association for Clinical Chemistry.

# Những công bố khác



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

## Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ymgme](http://www.elsevier.com/locate/ymgme)



### Pilot study of newborn screening for six lysosomal storage diseases using Tandem Mass Spectrometry☆

Susan Elliott<sup>a</sup>, Norman Buroker<sup>a</sup>, Jason J. Cournoyer<sup>b</sup>, Anna M. Potier<sup>b</sup>, Joseph D. Trometer<sup>b</sup>, Carole Elbin<sup>b</sup>, Mack J. Schermer<sup>b</sup>, Jaana Kantola<sup>e</sup>, Aaron Boyce<sup>a</sup>, Frantisek Turecek<sup>c</sup>, Michael H. Gelb<sup>c,d,\*\*</sup>, C. Ronald Scott<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pediatrics, University of Washington, Seattle, WA 98195, United States

<sup>b</sup> PerkinElmer, Waltham, MA 02451, United States

<sup>c</sup> Chemistry, University of Washington, Seattle, WA 98195, United States

<sup>d</sup> Biochemistry, University of Washington, Seattle, WA 98195, United States

<sup>e</sup> PerkinElmer, Turku 20750, Finland

### Newborn screening for lysosomal storage disorders by tandem mass spectrometry in North East Italy

Alberto B. Burlina<sup>1</sup> • Giulia Polo<sup>1</sup> • Leonardo Salviati<sup>2,3</sup> • Giovanni Duro<sup>4</sup> • Carmela Zizzo<sup>4</sup> • Andrea Dardis<sup>5</sup> • Bruno Bembi<sup>5</sup> • Chiara Cazzorla<sup>1</sup> • Laura Rubert<sup>1</sup> • Roberta Zordan<sup>2,3</sup> • Robert J. Desnick<sup>6</sup> • Alessandro P. Burlina<sup>7</sup>



## Kinh nghiệm và kết quả nghiên cứu của các phòng thí nghiệm trong sàng lọc LSD

S = Screening  
P = Pilot  
D = Diagnostic

## Tình hình sàng lọc LSD trên toàn cầu

Lãnh thổ	Vùng
	Georgia, US
	Illinois, US
	Kentucky, US
	Michigan, US
	Missouri, US
	North Carolina, US
	New Jersey, US
	New York, US
	Ohio, US
	Pennsylvania, US
	Tennessee, US
	Washington, US
	Wisconsin, US
NA	Mexico
	Taiwan
	Japan
APAC	Korea
	China
	Austria
	Belgium
	Hungary
	Italy
	Spain
EMEA	France
	Russia

22/25 CHƯƠNG  
TRÌNH SỬ DỤNG  
XÉT NGHIỆM  
KHỎI PHỎ DỰA  
TRÊN HOẠT  
TÍNH ENZYME!



# Tổng kết

- Công tác sàng lọc sơ sinh LSD rất thành công bằng việc đo trực tiếp hoạt độ enzyme trong mẫu máu khô..
- Sàng lọc sơ sinh LSD đang diễn ra ở Mỹ và một số quốc gia Châu Âu và Châu Á. Tại Châu Á, Đài Loan đang dẫn đầu và thực hiện sàng lọc 4 LSD khi Myozyme được sử dụng vào năm 2005 (đối với điều trị bệnh Pompe dưới sự bồi hoàn phí chăm sóc sức khỏe tại nước này)
- Xét nghiệm enzyme MSMS có phạm vi phân tích rộng hơn xét nghiệm huỳnh quang, dẫn đến giảm số lượng sàng lọc dương tính giả, như trong các nghiên cứu thí điểm quy mô lớn sử dụng giá trị ngưỡng tương đương.
- PerkinElmer NeoLSD™ tuân theo tiêu chuẩn CE-IVD, sẵn có và được sử dụng tại nhiều cơ sở sàng lọc sơ sinh.



**Xin chân thành cảm ơn!**

**Grace Chua**

Quản lý sản phẩm

chăm sóc sức khỏe sinh sản

[grace.chua@perkinelmer.com](mailto:grace.chua@perkinelmer.com)