

איתור של שינוי הומוזיגוטי בגן YARS1 בריצוף גנטי מתקדם בחולים עם פנוטיפ חשוד למחלה מטבולית – אבחנה המכוונת לטיפול חדשני מותאם אישית

תקציר

פגמים מולדים בחילוף החומרים – Inborn Errors of Metabolism – הם קבוצת מחלות גנטיות הנגרמות משינויים גורמי מחלה בגנים המקדדים לחלבונים המעורבים במסלולים ביוכימיים ומטבוליים בתא. אולם בדיקות מעבדה ביוכימיות הן לעיתים בלתי סגוליות. יישום שיטות ריצוף גנטיות מתקדמות בקליניקה (NGS) Whole Exome Sequencing (WES) כולל Next Generation Sequencing (NGS) Sequencing (WES) הוא יעיל ומאפשר אבחנה מהירה והתאמה של הטיפול לחולים. אנזימים מקבוצת Aminoacyl-tRNA Synthetases (ARSs) מעורבים בתרגום חלבונים בתא. לאחרונה דווח על השפעה קלינית טובה במתן חומצות אמיניות לחולים עם פגמים ב-ARSs.

אנו מביאים במאמרו זה פרשות חולים אשר הציגו תסמינים קליניים ומאפיינים מעבדתיים ששילובם החשיד למחלה מקבוצת פגמים מולדים בחילוף החומרים שעוברת בתורשה אוטוזומית רצסיבית. אולם נתונים אלה לא כיוונו לאבחנה ספציפית שתאפשר מתן ייעוץ גנטי וטיפול מתאים לחולים. שימוש מוקדם ב-WES זיהה שינוי הומוזיגוטי גורם המחלה בגן (NM_003680.3) YARS1 המקדד לאנזים Tyrosyl-tRNA Synthetase (TyRS) שכולל בקבוצת ה-ARSs וקושר את החומצה האמינית טירוזין ל-tRNA המתאים. החולים נמצאו הומוזיגוטיים והוריהם הטרוזיגוטיים לשינוי סלף ב-YARS1 c.1099C>T; p.Arg367Trp. בדיקת השינוי הגנטי בקרב הבדואיים בצפון ישראל גילה שכיחות נשאים גבוהה (1:24). ממצא זה מאפשר כיום ייעוץ גנטי לבני משפחה ולאוכלוסייה בסיכון. לאחרונה תוארו בעולם 12 חולים עם שינוי גנטי ופנוטיפ דומה לחולים כאן. ממצאים אלה מכוונים לצורך לחקור את השפעת תוספת טירוזין לחולים עם שינויים ב-YARS1. יישום מושכל של תרשים הזרימה לאבחון מחלות עקב פגמים מולדים בחילוף החומרים המובא לעיל, ממחיש כיצד אפיון קליני וביוכימי ושילוב מוקדם של NGS, משלימים זה את זה באבחון מחלה מקבוצת פגמים מולדים בחילוף החומרים ומאפשרים תחילתו של מחקר בינלאומי ליישום טיפול חדשני.

נאדרה נאסר סמרה^{2,1}
אלהאם מוראני^{1,2}
ביאן הנ³
דועא בכרי³
מוניה שעלאן³
האדי אסדי³
שרה בני שרם⁴
עלאא סואעד⁵
גאוטם קוק⁶
אירנה מופלס⁶
סבינה פוחס^{6,7}
מיקה שפירארוטמן⁸
הגר מורשקד^{9,10}
חנה מנדל¹¹

¹המכון הגנטי, מרכז רפואי זיו, צפת
²הפקולטה לרפואה, אוניברסיטת בר-אילן, צפת
³מחלקת ילדים, מרכז רפואי זיו, צפת
⁴היחידה לנזירולוגיה התפתחותית ילדים, מרחב גליל-גולן, מאוחדת שירותי בריאות
⁵פנימיית א' מרכז רפואי זיו ורופא משפחה במאוחדת שירותי בריאות
⁶מחלקת ילדים, מרכז רפואי וילהלמינה, אוטרכט, הולנד
⁷המרכז הרפואי האוניברסיטאי, אוטרכט, הולנד
⁸מחלקת דימות, רמב"ם, הקריה הרפואית לבריאות האדם, חיפה
⁹המחלקה לגנטיקה, מרכז רפואי הדסה, ירושלים
¹⁰הפקולטה לרפואה, האוניברסיטה העברית בירושלים, ירושלים
¹¹המרפאה המטבולית, מרכז רפואי זיו צפת

מילות מפתח: פגם מולד בחילוף החומרים (פמח"ח); הדור החדש של ריצוף גנים; ריצוף כלל-אקסומי; אנזימים מקבוצת האמינואציל טרנספראז RNA סינתטזות; הגן YARS1.

Keywords: Inborn errors of metabolism; Next Generation Sequencing; Whole Exome Sequencing; Aminoacyl-tRNA synthetases; YARS1

הקדמה

הגורמים לליקוי במסלולים ביוכימיים בתאים ולמחלות באדם. שכיחות הפמח"ח היא 1:800-2500 לידות חי [2,1]. בדיקות מעבדה המבוצעות באופן שוטף במרבית המעבדות בישראל ובדיקות "מטבוליות בסיסיות" המבוצעות במספר מרכזים מטבוליים בישראל הן שלב

פגמים מלידה בחילוף החומרים (פמח"ח) – Inborn Errors of Metabolism (IEMs) מהווים קבוצת מחלות גנטיות-מטבוליות הנגרמות משינויים בגנים רבים

טבלה 1: הממצאים הקליניים והמעבדתיים ב-12 חולים עם השינוי cArg367Trp בגן YARS1 (16) בהשוואה לשני החולים – VI-1, VI-3 המפורטים במאמר.

סימנים קליניים ומעבדתיים	12 חולים (16)	VI-1 (בעץ המשפחה)	VI-3 (בעץ המשפחה)
איחור בהתפתחות; הליכה בגיל 3 שנים; דיבור מספר מילים –3.5;	12/12 9/12	+	+
מיקרוצפליה נרכשת	12/12	+	+
דיסמורפיזם של הפנים	7/7	+	+
שיער דליל	5/12	+	+
חוסר עליה במשקל (FTT)	11/12	+	+
קומה נמוכה	12/12	+	+
היפוטוניה שרירית	9/12	+	+
הקאה/רפלוקס ושטי-קיבתי	2/12	+	+
אטקסיה	7/10	NO	NO
הדמיה מוחית (MRI) לא תקינה	7/9	+	++
אנמיה מיקרוציטית	8/8	+	+
היפואלבומינמיה	12/12	+	+
כבד מוגדל ואקוגני באולטרה-סאונד: היפרטרנסאמינזמיה	7/7	+	+
היפוטירואידיזם	4/9	–	–
אפילפסיה	NO	NO	NO

נכללת כיום בסל השירותים של משרד הבריאות בישראל על פי מדדים שקבע איגוד הגנטיקאים בישראל [11].

אנזימי קבוצת ה-ARSs: המסלול של תרגום הקוד הגנטי לחלבון כולל בין השאר קבוצה של אנזימים המכונה Aminoacyl-transfer Ribonucleic acid (tRNA) Synthetases (ARSs) שאחראים לקישור של כל חומצה אמינית ל-tRNA הסגולי שלה בשני שלבים (תרשים 2-ג) [12] ובהמשך, שילוב החומצה האמינית בתהליך סינתזת חלבונים על פני הריבוזומים בתאים. בשנים האחרונות הולכים ומתגלים חולים עם וריאנטים הומוזיגוטים ב-ARSs השונים המציגים מחלות רב-מערכתיות. הגן YARS נכלל בקבוצת ה-ARSs ומקודד לאנזים סינתזת הקושר טירוזין ל-tRNA הסגולי שלו (TyrRS). שינויים שונים ב-YARS גורמים להסתמנויות קליניות רב-מערכתיות רבות פנים (תרשים 2-ב) [13-15].

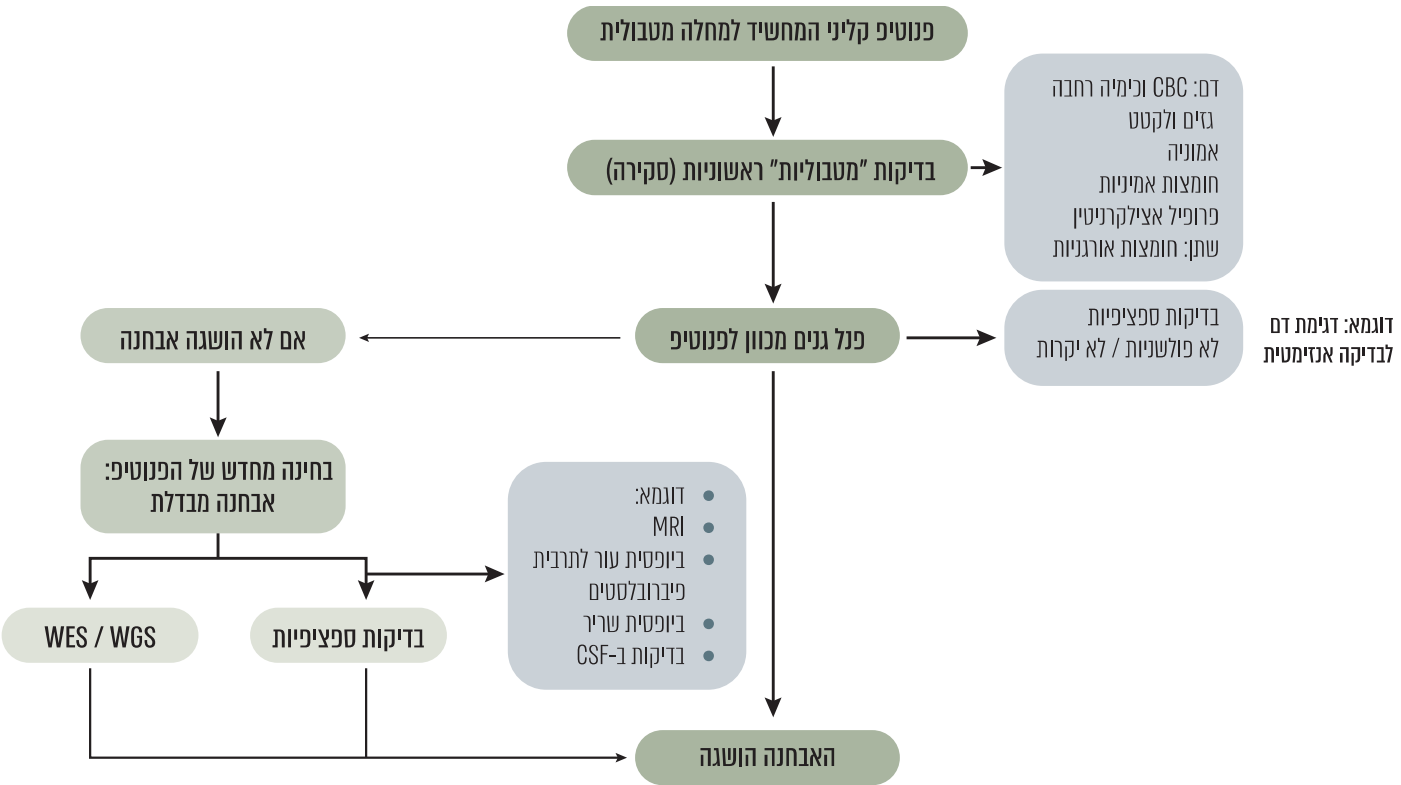
פרשות החולים המובאות במאמרו ממחישות כיצד הכללה מוקדמת של NGS באבחון חולים עם הסתמנות קלינית וביוכימית שהחשידה לפמח"ח (כמומלץ בתרשים זרימה לקלינאי (תרשים 1) [3], הביאה לזיהוי הגן YARS1 (NM_003680.3) ושינוי סלף הומוזיגוטי c.1099C>T; p.(Arg367Trp) (תרשים 2-א). השינוי תואר לאחרונה ב-12 חולים בעולם [16]. החולים שנבדקו כאן נמצאו הומוזיגוטים, הוריהם הטרוזיגוטים לשינוי הגנטי, ובאוכלוסיית הבדואים בצפון-ישראל נמצאה שכיחות נשאים גבוהה לכדי 1:24 באופן שיתאפשר ייעוץ גנטי והכללת תסמונת זו בתוכנית הסקר הלאומי – הגנטי [17]. לאחרונה פורסם מחקר בחולים עם פגמים ב-ARSs

ראשוני חשוב בתהליך אבחון פמח"ח (תרשים 1) [3]. חיוני לבצע בדיקות אלה בדחיפות במצבי דחק, כאשר עולה החשד לפמח"ח, כדי להבטיח מתן טיפול מציל חיים בזמן למניעת נזק בלתי הפיך לחולה [4-6].

אולם בחלק מהפמח"ח אין סימנים קליניים ייחודיים (טבלה 1) ו/או סמנים ביוכימיים סגוליים שיכונו לאבחנה. האיתור של סמנים כאלה מחייב לעיתים בדיקות פולשניות לביסוס האבחנה (כביופסיית שריר, כבד או אחר), ועלות הבדיקות גבוהה ומבוצעת רק במעבדות מחקר בודדות בארץ ובעולם. גם אם במחלה מטבולית מסוימת קיימים סמנים ביוכימיים אופייניים, עדיין נחוצות בדיקות גנטיות שיאפשרו זיהוי מדויק של הגן והשינוי הפתוגני (תרשים 1) [3] לשם מתן ייעוץ גנטי, לאבחון טרום-לידתי או טרום-השרשתי (PGD). יתרה מכך, כיום, בעידן של רפואה מותאמת אישית, תוצאת הבדיקה הגנטית עשויה לכוון למחקר קליני ליישום טיפול חדשני [7].

בשנים האחרונות חלה פריצת דרך ביישום שיטות ריצוף גנטי מתקדמות (Next Generation Sequencing) (NGS) בקליניקה, שתוצאותיו מאפשרות ייעוץ גנטי לחולים ומשפחות שנותרו שנים רבות ללא אבחנה ולעיתים מכון גם לטיפול מותאם אישית. טכנולוגיית ה-NGS מאפשרת ריצף אזורים נרחבים של הגנום האנושי ברזמנית ובעלות כספית נמוכה בהשוואה לעבר [8,10]. קיימות מספר שיטות של NGS שנמצאות ביישום קליני במעבדות בישראל ובעולם כולל בין השאר ריצוף כלל-אקסומי שבו מרוצפים כל האקסונים בגנום המקדדים לחלבונים (Whole Exome Sequencing – WES).

תרשים 1: תרשים זרימה לקלינאי באבחון חשד למחלה מטבולית [3]: שני השלבים הראשונים כוללים הגדרה של ההסתמנות הקלינית (הפנוטיפ) וביצוע בדיקות מעבדה ראשוניות (ר' טבלה במלבו) המחשידים למחלה מטבולית. בצעד הבא מוצע לבצע בדיקת פנל של גנים שמתקשרים לפנוטיפ הקליני בשיטות NGS. אם לא זוהה הגן, מוצע לבחון מחדש את הפנוטיפ ולהוסיף בדיקות מעבדה, חלקן "פולשניות" (ר' במלבו) או לחלופין לעבר לשלב ביצוע WES (Whole Exome Sequencing) – ריצוף כל האקסונים) או WGS (Whole Genome Sequencing) (ריצוף כל הגנום כולל אקסונים ואינטרונים). לא אחת, גם אם זוהה הגן והחלבון המקודד על ידו יידרש שלב מחקרי להוכיח שהשינוי הגנטי הוא גורם מחלה ולהבנה מעמיקה של תפקיד החלבון.



שונים שבהם תוספת של החומצות האמיניות המתאימות לחסר הגנטי הביאה לשיפור במדדי בדיקות המעבדה (*in vitro*) ובמדדים קליניים בחולים [14,15]. מחקרים אלה מצביעים על הצורך לחקור את השפעת תוספת טירוזין לחולים בישראל ובעולם עם שינוי הסלף ההומוזיגוטי המתואר לעיל.

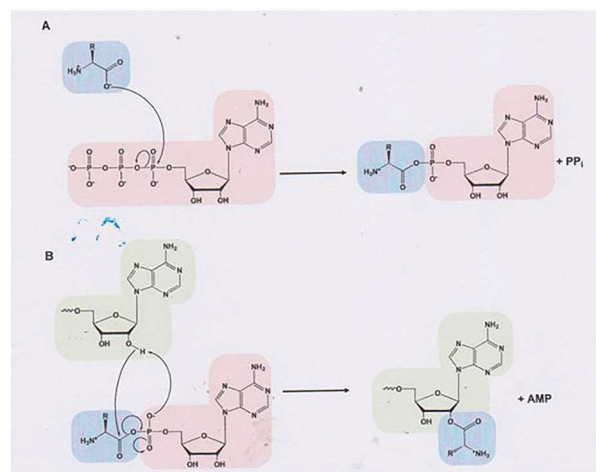
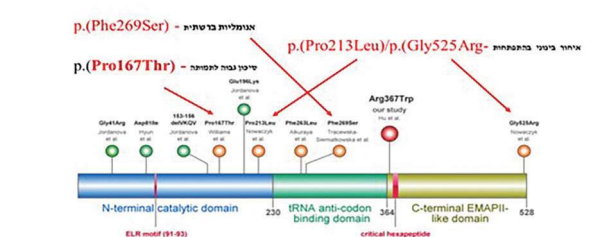
מפרשות החולים

מפרשת חולה 1:

החולה VI-3 (תרשים 3 עץ המשפחה) הוא ילד בן שנתיים, בן שני להורים בני דודים דרגה 3 מבית אב ממוצא בדואי מצפון ישראל. להורים עוד ילד בריא בן 3 שנים. בן אחות של האמא (VI-1) הציג ממצאים קליניים דומים. הילד הופנה לבירור מטבולי לראשונה במהלך אשפוז בגיל שנה לבירור חוסר שגשוג ועיכוב התפתחותי גלובאלי. **אנמנזה:** ילד שנולד מהיריון תקין, לידה במועד, משקל לידה 630,2 גרם (אחוזון 10). היקף הראש בלידה 33,5 ס"מ (אחוזון 15). עד גיל 5 חודשים ניזון מפורמולה חלבית ועלה במשקל ל-6,390 גרם (אחוזון 12). בגיל 7 חודשים נצפתה ירידה במשקל ל-5,840 ג'. **בגיל 9 חודשים** אושפז במחלקת ילדים לבירור חוסר עליה במשקל

FTT = Failure to Thrive), איחור בהשגת אבני דרך התפתחותיות: קושי בתפיסה של חפצים, לא התהפך, לא ישב. היקף הראש 41.5 מתחת לאחוזון 3. במהלך האשפוז התינוק הציג אירועים של אי-שקט, מלווה בהכרה מעורפלת ותנועות כיפוף הרגליים אל הבטן עם הרמת ידיים מעל הראש, מלווה בבכי צווחני. בחשד לפרוכוסים בוצע EEG שהיה תקין. דיקור מותני לא צלח. בשל אי עלייה במשקל הוחלפו פורמולות חלביות מספר פעמים והוחל בפורמולה היפואלרגנית ללא שיפור. בגיל שנה אושפז שוב להמשך בירור של איחור בהתפתחות, הקאות מרובות, ירידה במשקל ואנמיה היפוכרומית מיקרוציטית. **בקבלתו לאשפוז:** נראה חיזור עם סימנים חיוניים תקינים: לחץ דם: 93/61, דופק 121, ריווי חמצן בדם 96%. **בעיה נזירית התפתחותית:** התינוק נראה חלש עם רפיון שרירים בולט, שכב בתנוחת צפרדע עם היפוטוניה קשה של הגו עם צניחת ראש לאחור במשיכת ידיים. לא נצפו שינויים דיסמורפיים אך בלטו **מיעוט שיער והתקרחות**. בימים הראשונים נראה שקוע אך לסירוגין פקח עיניים ויצר קשר עין קצר. לא הופקו חוזרים גידיים. **קרקעית עיניים** תקינה ללא סימני ניוון של עצב הראייה, ללא רטיניטיס פיגמנטוזה וללא גוון אדום-דובדבן של המקולה (cherry red spot). **EEG** - תקין. בדיקת דימות של המוח (MRI) (תרשים 3 - עץ המשפחה) הדגימה עיכוב במילניציה

שלב B: החומצה האמינית (בכחול) מועברת ל-A (ירוק) ומשתחרר AMP.

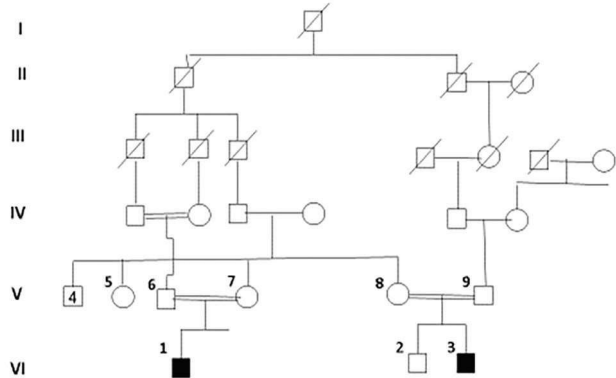


בדיקות לפמח"ח כללו גזים ואמוניה שהיו תקינים; רמת לקטט - 3.5 ממו"ל/ל' (נורמה עד 1.8). תבנית חומצות אמיניות וחומצות שומן ארוכות שרשרת (VLCFA) בסרום ותבנית חומצות אורגניות בשתן היו תקינות. **בחדש לתהליך זיהומי** נלקחו תרביות דם ותרביות שתן שהיו שליליות, CRP - 28 (תקין עד 0.5), **סרולוגיה רחבה לנגיפים** כולל EBV היתה שלילי ו־CMV IgG חיובי 129. **בבדיקת ערכים כימיים רחבה** נמצאו עלייה מתונה באנזימי כבד - AST - 54 יח"ל' (נורמה 35-5), ALT - 78 (יח"ל') נורמה (35-5), GGT - 118 יח"ל' (נורמה: 30-5) ו־CPK (קראטין פוספוקינזה) - 120 יחידות/ל (נורמה - 150-5). **בשאלה של תת ספיגה** נבדקו רמות ויטמינים,

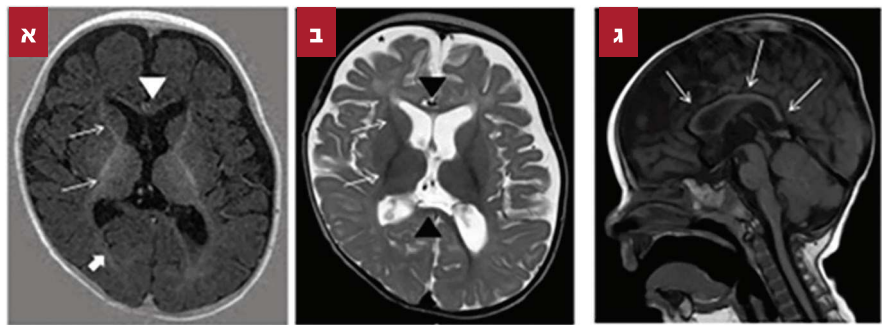
תרשים 3: 1. עץ המשפחה: ריבוע שחור – חולה; קו כפול מצוין קרובי משפחה; קו אלכסוני מצוין פרט שנפטר; ההורים של V-6+7, VI-1 הם בני דודים דרגה 2; ההורים של V-8+9, VI-3 הם בני דודים דרגה 3. שתי האימהות של החולים (V-7+8 הן אחיות).
תמונה 1: תהודה מגנטית של המוח (MRI) של החולה VI-3: דפוס המיאליניזציה (המזוהה על ידי סיגנל גבוה/בוהק ב-T1W) אינו תואם לגילו של הנבדק (שנה בעת ביצוע הבדיקה). בבדיקה זו ניתן להתרשם ממיאליניזציה המערבת בעיקר את הקפסולה אינטרנה – זרוע קדמית ואחורית (חיצים לבנים). וממיאליניזציה מרומזת על ידי שינויים עדינים בקורפוס קלוסום – בגנו ובספלניום (ראש חץ לבן) וכן ב-optic radiations (חץ לבן עבה). בגיל שנה ניתן היה לצפות למיאליניזציה רחבה יותר שקרובה לדרגת מיאליניזציה של ילד בוגר. באבחנה מבדלת יתכן שמדובר בעיכוב במיאליניזציה (יכול להופיע במחלות גנטיות רבות) או בהיפומיאליניזציה בו קיים פגם גנטי שמונע ייצור כמות תקינה של מיילין. כדי להבדיל בין שני המצבים יש צורך בביצוע בדיקות MRI חוזרות.
תמונה 2: חתך אקסיאלי ב-T2W: בגיל שנה מעריכים בדרך כלל את מידת המיאליניזציה על פי רצפי T1W. עם זאת, גם ב-T2W ניתן להתרשם ממרכיב של עיכוב או היפומיאליניזציה. כמו כן, הרחבה מתונה של חללי CSF אקסטרה אקסאלים (נוזל סובארכנואידלי) (כוכבית) ושל מערכת החדרים, בשילוב עם היקפי ראש קטנים (מיקרוצפליה פרוגרסיבית) מכוון למרכיב של אובדן נפח או אטרופיה של רקמת המוח.
תמונה 3: חתך סג'טלי ב-T1W – בחתך מיד-סג'טלי ב-T1W ניתן להתרשם מקורפוס קלוזום שקיים על כל חלקיו (חצים) אך הוא נראה דק יחסית.



1



2



משקל 2780 גרם (אחוזון 10), היקף ראש 35 ס"מ (אחוזון 50). אושפז לראשונה בגיל 5 חודשים בשל הקאות, עיכוב בעלייה במשקל ובהשגת אבני דרך התפתחותיות. בגיל 14 חודשים נבדק לראשונה על ידי נירולוגית ילדים בשל היפוטוניה, איחור בהשגת אבני דרך התפתחותיות. בגיל 9 חודשים קשר עין סוציאלי קצר בלבד וישב לא יציב עם גב עגול. בגיל 20 חודשים החל לזחול על 6 והתיישב, ובגיל שנתיים החל ללכת סביב בתמיכה (עד היום). בבדיקה בגיל שנתיים: היקף הראש 44 ס"מ (אחוזון 3). שיער דליל עם התקרחות באזור האוקציפאלי. משקל: 9,900 גרם (אחוזון 3). רזה, שרירים מדולדלים, היפוטוניה ניכרת ולא הופקו החזרי פיקה ואכילס. **בשל ההיפוטוניה והחזרי פיקה ואכילס ירודים** בוצעו בדיקות אלקטרופיזיולוגיות: EMG, והולכת עצב שהראו האטה בינונית בהולכה של עצבים מוטוריים וסנסוריים, בעיקר בגפיים התחתונות, ללא סימני דנרוציה או ראינרבציה. הממצא פורש כמכוון לאחד הסוגים של נירופתיה תורשתית מהקבוצה של **Hereditary Motor Sensory Neuropathy או Charcot Marie Tooth (16)**. הדמית MRI מוח הייתה תקינה. **בשל**

ביוכימיים פתולוגיים התומכים בפגם במסלול המטבולי בו מעורב ביוטין, הילד החל לקבל ביוטין במינון מוגבר של 10 מ"ג ביום ונצפה שיפור קליני שכלל שיפור בערנות וביצירת קשר עם הסובבים, נשירת השער פסקה ונצפתה גדילה מחודשת של השיער, אם כי איטית. לא מן הנמנע שכחלק מהתפתחות של הילד, היה גם חסר ביוטין שהגיב לטיפול אך לא בא לביטוי בבדיקות המעבדה ואיננו קשור בווריאנט ב-YARS-1.

בהתבסס על שילוב הממצאים הקליניים והביוכימיים שהעלו חשד למחלה מטבולית (טבלה 1; תרשים 1), הוחלט על ביצוע WES במטרה לאבחן בהקדם את הפגם הגנטי שעשוי לכוון למחלה מטבולית הניתנת לטיפול.

מפרשת חולה 2:

החולה VI-1 – ילד בן שנתיים וחצי. בן ראשון להורים בני דודים דרגה 2 הציג ממצאים קליניים דומים לשל בן דודו VI-3, אם כי ההסתמנות הקלינית הייתה סוערת פחות. VI-1 נולד מהיריון IVF. מעקבי היריון דווחו כתקינים. לידה ספונטנית בשבוע 40 להריון, אפגר 9/10,

וההורים נשאים למוטציה (p.Arg367Trp >T, c.1099C) בגן *YARS1*.

בבדיקת סקר אנונימיות בקרב פרטים ממוצא בדואי מצפון הארץ נמצאה שכיחות גבוהה של נשאים - 1:24. מידע זה הועבר למחלקה לגנטיקה קהילתית במשרד הבריאות כדי לכלול את הבדיקה בסקר הגנטי הממומן של משרד הבריאות עבור אוכלוסייה זו.

בבדיקות בתרבות התאים של VI-1 נמצאה פעילות נמוכה של האנזים TyrRS והודגם סבל של תרבויות התאים שגודלו במדיום ללא טירוזין (מידע אישי). חקר השפעת הוספת טירוזין בריכוזים שונים לתרבויות התאים נמשך בימים אלה.

דין

אנו מתארים במאמר זה שתי פרשות חולים, שהציגו תמונה קלינית שכללה קשיים באכילה, עיכוב בגדילה והתפתחות, הקאה, שלשול, נמנום, אידשון, מיעוט שיער והתקרחות, היפרטרונייה עם היעדר או ירידה בערות החזרים גדיים, היפרטרנסאמינמיה ועדות לכבד שומני בסקירת על שמע (US). השילוב של ממצאים קליניים וביוכימיים שאינם סגוליים, והעובדה שההורים קרובי משפחה (תרשים 3 - עץ המשפחה) החשידו למחלה לא מוגדרת מקבוצת הפמח"ח שעוברת בתורשה אוטוזומית רצסיבית. בשלב מוקדם של תהליך האבחון בוצעה בדיקת ריצוף גנטי מתקדם - WES שזיהתה שינוי סלף הומוזיגוטי בגן *YARS1* c.1099C >T; p.Arg367Trp. השינוי תואר לאחרונה ב-12 חולים ברחבי העולם כגורם לתסמונת חדשה בקבוצת מחלות ה-ARSs (16). המאמר הנוכחי ממחיש לקלינאים כיצד שילוב הגדרת פנוטיפ קליני וביוכימי עם יישום מוקדם של בדיקה גנטית מתקדמת - NGS, משלימים זה את באבחון מוקדם של פמח"ח (תרשים 1). יתרה מכך, גילוי הגן וחקר החלבון המקודד על ידו מכוונים לטיפול מותאם אישי לחולים.

שינויים פתוגניים ב-Aminoacyl-tRNA synthetases (*ARS1*) מעורבים בגרימת מחלות נורית-התפתחותיות ומחלות רב-מערכתיות המעורבות רקמות שונות. ה-ARSs הם אנזימים האחראים לקישור החומצות האמיניות, כל אחת ל-tRNA הסגולי שלה בתהליך בניית החלבון (תרשים ג2). מחלות רבות נכללות כיום בקבוצת ה-ARSs. שינויים גורמי מחלה בכל אחד מהגנים בקבוצת ה-ARSs תוארו כגורמים למחלות אוטוזומיות רצסיביות קשות ורב-מערכתיות שמתגלות בגיל הינקות והילדות (תרשים ג2) [16]. ה-*YARS1* מקודד ל-Tyrosyl-tRNA synthetase (*TyrRS*) בציטוזול שאחראי לקישור טירוזין ל-tRNA הסגולי שלה ומעורב בתהליך סינתזת חלבונים בתא. שינויים ב-*YARS1* תוארו לראשונה כקשורים בנורופתיה מהקבוצה של Charcot Marie Tooth שמורשת בתורשה דומיננטית. בהמשך נמצאו וריאנטים שונים הגורמים לטווח קליני רחב של מחלות רב-מערכתיות [16]. במהלך השנים התברר, שבנוסף לאתר בגן *YARS1* המקודד לפעילות האנזימטית של החלבון, קיימים בשני צידי הגן אזורים המקנים לחלבון תפקודים נוספים דמויי-

האיחור השפתי בוצעה בדיקת BERA שהראתה שמיעה תקינה לרוחב כל התדרים אך תועדה האטה בהולכה במסילות שמע בגזע המוח שפורשה כמונוגן לאיחור בהבשלה של החומר הלבן.

בשל השילוב של עיכוב בגדילה ובהתפתחות (-DQ 44), מיקרופליה נרכשת, חשד קליני ואלקטרופיזיולוגי לנוירופתיה הקפית, אנמיה מיקרוציטית ועלייה באנזימי כבד, שהעלו חשד לתסמונת גנטית (מטבולית או אחרת) - בוצעה בדיקת צ'יפ גנטי (CMA) שהייתה תקינה.

הבירור הגנטי למטופלים בוצע על דגימות דנ"א שהופקו מהדם של הילדים והוריהם. הורי הילדים חתמו על הסכמה מדעת עבור כל הבדיקות הגנטיות במסגרת קלינית. בחולים, בוצעה בדיקת שבב גנטי - CMA=chromosomal microarray בשיטות מקובלות ששללה חסרים או עודפים בכרומוזומים בשני הילדים.

(WES) whole-Exome-Sequencing זיהו הגן והשינוי גורם המחלה בוצע באמצעות ריצוף אקסומי במודל טריו שכלל דגימות דנ"א של הילד VI-3 והוריו במסגרת ניסויי (פילוט) של משרד הבריאות. רצפי האקסונים הועשרו באמצעות קיט של xGen Exome Research Panel IDT-V2 ורוצפו במכשיר NOVASEQ6000 (Illumina, San Diego, California, USA). אורך הקריאות היה 150 בסיסים. השוואת הרצפים לגנום (גרסת hg19) התבצעה תוך שימוש ב-DNA Nexus (Palo Alto, California, USA) עם פרמטרים של ברירת המחדל. אנליזת האקסום של החולה כללה 71 מיליון קריאות, עם כיסוי ממוצע של 78%-95% מהקריאות מעל 20%.

ריצוף בשיטת סנגר בוצע לאימות השינוי ולבדיקת בני המשפחה (סגרגציה) בשיטות מקובלות. במטרה לבדוק את שכיחות הנשאים לשינוי מחולל המחלה, בוצע במעבדה המולקולרית במרכז הרפואי זיו, בצפת, סקר נשאים מדגימות דנ"א אנונימיות באוכלוסיית הבדואים בצפון ישראל.

לבירור הפתוגניות של השינוי (כמחולל מחלה), ולאחר קבלת הסכמה מדעת של ההורים להשתתפות במחקר (מאושר על ידי ועדת הלסינקי של המרכז הרפואי זיו), ניטלה דגימת עור מחולה V-1 וגודלה תרבות תאי פיברובלסטים. בתרבות זו נבדקו פעילות האנזים TyrRS, יציבות החלבון בטמפרטורות שונות, רגישות התאים והפעילות האנזימטית בתנאי גידול במדיום עם ריכוזים שונים של טירוזין (הבדיקות בוצעו במעבדה האוניברסיטאית באוטרקט עם התאמה לשינוי בגן *YARS1*) [14].

בבדיקת WES שבוצעה בדגימת דנ"א של VI-3 נמצא באקסון 10 של הגן *YARS1* שינוי הומוזיגוטי (NM_003680.3(YARS1): c.1099C>T, p.(Arg367Trp) שהוגדר כשינוי גורם מחלה. השינוי תואר לאחרונה ב-12 חולים [16]. לא נמצאו שינויים גורמי מחלה נוספים. ההורים נמצאו הטרוזיגוטים-נשאים לשינוי (תרשים 2 - א2). השינוי אושר בשיטת סנגר. בהנחה ששני החולים, שהם בניהן של שתי אחיות, סובלים מאותה תסמונת גנטית, אוטוזומלית רצסיבית, בוצע ריצוף של המוטציה ב-VI-1 ובהוריו בשיטת סנגר. החולה נמצא הומוזיגוטי

ליישום מחקר קליני של מתן החומצה האמינית הסגולית לחולים עם הפגמים השונים ב-ARSs. טיפול זה גרם לשיפור במדדים קליניים שונים כולל גדילת היקף הראש, לעלייה במשקל, להשגת אבני דרך התפתחותיות ולשיפור בהתמודדות עם זיהומים נגיפיים.

בהסתמך על תוצאות מחקר זה ולאחר קבלת הסכמה מדעת של ההורים, עבר החולה VI-1 ביופסיה מהעור, ומדגימת עור זו גידלנו תרבית תאים-פיברובלסטיים. בימים אלה התקבלו תוצאות ראשונות שהראו ירידה בתפקוד האנזים TyrRS בהשוואה לתרבית תאים מבריא. בהתבסס על תוצאות אלה ותוצאות המחקר של Gautam K וחב' [14], החל בימים אלה מחקר בינלאומי, שמטרתו לבדק את ההשפעה של מתן טירוזין במינון מוגבר על מדדים קליניים וביוכימיים בחולים עם YARS1 p.Arg367Trp.

לסיכום

פרשות החולים המתוארות כאן ממחישות כיצד אפיון קליני-ביוכימי של החולים עם שילוב מוקדם של NGS כמתואר בתרשים הזרימה (תרשים 1) השלימו את זה באבחון מחלה בקבוצת הפמ"ח והיו ליסוד של מחקר בסיסי וקליני בינלאומי ליישום טיפול חדשני. השכיחות הגבוהה של נשאים לשינוי הגנטי גורם המחלה בקרב הבדואים בצפון ישראל (1:24) מאפשרת לתת ייעוץ גנטי לבני משפחה ולאוכלוסייה בסיכון. מידע זה הועבר למחלקה לגנטיקה קהילתית במשרד הבריאות כדי לכלול את הבדיקה בסקר הגנטי הממומן של משרד הבריאות עבור אוכלוסייה זו.

מחברת מכותבת: חנה מנדל
המכון הגנטי, מרכז רפואי זיו, צפת
דוא"ל: Hmandel2637@gmail.com

ציטוקינים (מעורבים בתהליכים אימונולוגיים) (תרשים 2).

לאחרונה תיארו Averdunk וחב' [16] 12 פרטים מ-6 משפחות עם שינוי הומוזיגוטי זהה לשינוי של החולים המתוארים כאן p.Arg367Trp; c.1099C>T. וריאנט זה קשור במחלה רב-מערכתית עם הסתמנות קלינית דומה מאוד ל-2 החולים שאנו מתארים (טבלה 1). בנוסף, החזר ושיט-קיבה והקאות שבלטו מאוד בחולים VI-1 וב-VI-3 דווחו רק ב-2/12 מהחולים בספרות, ונירופתיה היקפית שתועדה כאן לא דווחה ב-12 החולים בספרות [16]. ממצאי הדימות של המוח ב-VI-3 (תרשים 3: תמונה 1 - תהודה מגנטית של המוח) דומים לממצאים שדווחו בספרות בשילובים שונים [16]. בחולה VI-1 נמצאה בדיקת דימות תקינה של המוח, בדומה ל-3 חולים שדווחו בספרות [16].

ההסתמנות הקלינית שדווחה בחולים עם השינוי Arg367Trp בגן YARS1 שונה מזו של חולים שתוארו בספרות עם שינויים הומוזיגוטיים אחרים גורמי מחלה הממוקמים באתרים אחרים של הגן (תרשים 2) [16]. למרות שקיימים תסמינים חופפים, הביטוי הקליני המיוחד שנקשר בשינוי p.(Phe269Ser) הוא פגיעה ברשתית; השינויים p.(Gly525Arg)/p.(Pro213Leu) נקשרו באיחור התפתחותי בינוני, והשינוי p.(Pro167Thr) תואר כגורם למוות בתינוקות. אנו משערים שהממצאים הקליניים המגוונים קשורים במיקום של השינויים הגנטיים באתרים שונים בגן YARS1 המשפיעים על תפקודיו השונים של החלבון.

הטיפול במחלות ה-ARSs מבוסס כיום על מתן מינון גבוה של החומצה האמינית שמתאימה לאנזים הסינתטזה הסגולי שלה. לאחרונה הראו Gautam K וחב' [14], כי בתרבית תאים של חולים עם פגמים שונים ב-ARSs, קיים מנגנון פתופיזיולוגי דומה המצביע על ירידה בפעילות האנזים הסגולי הקושר חומצה האמינית ל-tRNA המתאים לה. מתן מינון מוגבר של החומצה האמינית המתאימה בתרבית תאים, שיפר את כושרם של אנזימי ה-ARSs השונים לקשור את החומצה האמינית ל-tRNA הסגולי שלה. תוצאות מעבדתיות אלה הביאו

ביבליוגרפיה

- Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics*. 2000;105(1):e10.
- Sanderson S, Green A, Preece MA, Burton H. The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK. *Arch Dis Child*. 2006;91(11):896-9.
- Ghosh A, Schlecht H, Heptinstall LE, Bassett JK, Cartwright E, Bhaskar SS, et al. Diagnosing childhood-onset inborn errors of metabolism by next-generation sequencing. *Arch Dis Child*. 2017;102(11):1019-29.
- van Karnebeek CD, Shevell M, Zschocke J, Moeschler
- JB, Stockler S. The metabolic evaluation of the child with an intellectual developmental disorder: diagnostic algorithm for identification of treatable causes and new digital resource. *Mol Genet Metab*. 2014;111(4):428-38.
- van Karnebeek CD, Stockler S. Treatable inborn errors of

- metabolism causing intellectual disability: a systematic literature review. *Mol Genet Metab.* 2012;105(3):368-81.
6. Mandel H, Mendelsohn H, Aizin A, Dar H, el-Peleg O. [Inborn errors of metabolism: lessons from a clinical case]. *Harefuah.* 1989;117(3-4):51-6.
 7. Arghmann CA, Houten SM, Zhu J, Schadt EE. A Next Generation Multiscale View of Inborn Errors of Metabolism. *Cell Metab.* 2016;23(1):13-26.
 8. Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *N Engl J Med.* 2013;369(16):1502-11.
 9. Soden SE, Saunders CJ, Willig LK, Farrow EG, Smith LD, Petrikin JE, et al. Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Sci Transl Med.* 2014;6(265):265ra168.
 10. Valencia CA, Husami A, Holle J, Johnson JA, Qian Y, Mathur A, et al. Clinical Impact and Cost-Effectiveness of Whole Exome Sequencing as a Diagnostic Tool: A Pediatric Center's Experience. *Front Pediatr.* 2015;3:67.
 11. לינה באסל שבש, אפרת לוי-להד, אורית רייש. אבחון מולקולארי של מחלות מונוגניות לאחר הלידה (בילדים ומבוגרים) נייר עמדה באתר הר"י 2016.
 12. Antonellis A, Green ED. The role of aminoacyl-tRNA synthetases in genetic diseases. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:87-107.
 13. Williams KB, Brigatti KW, Puffenberger EG, Gonzaga-Jauregui C, Griffin LB, Martinez ED, et al. Homozygosity for a mutation affecting the catalytic domain of tyrosyl-tRNA synthetase (YARS) causes multisystem disease. *Hum Mol Genet.* 2019;28(4):525-38.
 14. Kok G, Tseng L, Schene IF, Dijsselhof ME, Salomons G, Mendes MI, et al. Treatment of ARS deficiencies with specific amino acids. *Genet Med.* 2021;23(11):2202-7.
 15. Fuchs SA, Schene IF, Kok G, Jansen JM, Nikkels PGJ, van Gassen KLI, et al. Aminoacyl-tRNA synthetase deficiencies in search of common themes. *Genet Med.* 2019;21(2):319-30.
 16. Averdunk L, Sticht H, Surowy H, Ludecke HJ, Koch-Hogrebe M, Alsaif HS, et al. The recurrent missense mutation p.(Arg367Trp) in YARS1 causes a distinct neurodevelopmental phenotype. *J Mol Med (Berl).* 2021;99(12):1755-68.
 17. Zlotogora J. The Israeli national population program of genetic carrier screening for reproductive purposes. How should it be continued? *Isr J Health Policy Res.* 2019;8(1):73.
 18. Stevenson RE. Alpha-Thalassemia X-Linked Intellectual Disability Syndrome. 2000 Jun 19 [updated 2020 May 28]. In: Adam MP ED, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 20301622.
 19. Hayek W, Dumin Y, Tal G, Zehavi Y, Sakran W, Spiegel R. Biotinidase Deficiency: A Treatable Neurological Inborn Error of Metabolism. *Isr Med Assoc J.* 2019;21(3):219-21.

כרוניקה

זיהומי פטריות קטלניים בחולי קורונה



של 8.5% בין השנים 2020–2021, מתוך כ-40,000 אשפוזים עקב זיהום פטריות, 13.4% היו קשורים לקורונה. אשפוז של חולי קורונה עם זיהום פטריתי היה ארוך יותר, חציון של 21 יום לעומת 9 ימים, וכן נדרשו יותר אשפוזים בטיפול נמרץ – 70% לעומת 35.5%. כמו כן, הנשמה מכנית הייתה נפוצה יותר בקרב חולי קורונה עם זיהום פטריתי – 64.4% לעומת 22.5%. החוקרים ממליצים להגביר ערנות ולחשוד בהדבקות פטריות בקרב חולים בסיכון גבוה במיוחד חולי קורונה (Emreg Infect Dis 2023;2:1433).

איתן ישראלי

גולד וחב' מהמרכז לבקרת מחלות ומניעתן באטלנטה, בדקו את שיעורי התמותה בקרב חולי קורונה שלקו גם בזיהום פטריתי, לעומת אנשים שלא אושפזו עקב קורונה. בין השנים 2020–2021, שיעור התמותה בקרב המאושפזים עם קורונה וזיהומים מפטריות היה בממוצע 48.5%, בעוד שבקרב אנשים שלא חלו גם בקורונה הערך היה 12.3%. שיעורי התמותה הגבוהים ביותר נצפו עקב זיהומים באספרגילוס (57.6%), בקנדידה (55.4%), מוקור (44.7%) ובפטריות אחרות לא מזוהות (59%). בקרב מעל 59,000 אשפוזים עקב זיהומי פטריות, קצב האשפוזים ל-10,000 היה 22.3 בשנת 2019, 25.0 בשנת 2020 ו-26.8 בשנת 2021 – נתונים המתאימים לשינוי שנתי ממוצע