

PROFILUL GENETIC ȘI BIOCHIMIC AL PACIENȚILOR PEDIATRICI CU SUSPECȚIE CLINICĂ DE BOLI MITOCONDRIALE

Doina Secu^{1,2}, Natalia Ușurelu¹, Daniela Blăniță¹,
Victoria Sacară¹

Conducător științific: Victoria Sacară¹

¹Institutul Mamei și Copilului

²Catedra de biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”

Introducere. Bolile mitocondriale (BM) sunt condiții genetice rare care perturbă producția de energie celulară și sunt rezultatul mutațiilor ADN-ului nuclear sau mitocondrial (ADNmt). Incidența BM constituie 1:5.000 de nou-născuți vii și se prezintă cu o vastă eterogenitate clinică, fapt ce complică diagnosticul și gestionarea acestora. Stabilirea unui diagnostic genetic precis și prompt este crucială pentru gestionarea eficientă, prognostic și consiliere genetică. **Scopul lucrării** este de a caracteriza profilurile biochimice și molecular-genetice ale pacienților pediatrici care prezintă simptome sugestive pentru BM. **Material și metode.** Un grup de 100 de pacienți care prezintă simptome sugestive pentru BM a fost supus unui screening pentru șapte mutații patogene punctiforme frecvent întâlnite la nivelul ADNmt, folosind analiza cantitativă de topire la înaltă rezoluție (qPCR-HRM), urmată de secvențierea Sanger. În plus, s-au efectuat teste cantitative pentru cuantificarea aminoacizilor în plasmă și a acizilor organici în urină. **Rezultate.** Toți pacienții au fost evaluați folosind scala criteriilor Nijmegen pentru BM. În cadrul coortei, 24 de pacienți au fost clasificați ca având o BM posibilă, 39 – BM probabilă și 37 – BM certă. Toți indivizii cu BM certă au prezentat niveluri crescute de lactat seric, iar 19 au prezentat concentrații crescute de alanină. Profiluri anormale ale acizi organici urinari au fost identificate la doisprezece pacienți. Prin analiza qPCR-HRM au fost identificate mutații patogene la patru pacienți (m.3243 A>G, m.8993 T>G la doi pacienți și m.11778 G>A). Secvențierea Sanger a 21 de gene de la nivelul ADNmt la 55 de pacienți a relevat mutații patogene sau potențial patogene asociate cu BM la 19 indivizi (34%). **Concluzii.** În lotul de 100 de pacienți investigați, s-au identificat 23 de indivizi cu variante patogene sau potențial patogene asociate cu prezentarea lor fenotipică. **Cuvinte-cheie:** mutație ADNmt, analiză qPCR-HRM, secvențierea Sanger.

GENETIC AND BIOCHEMICAL PROFILING OF PEDIATRIC PATIENTS WITH CLINICALLY SUSPECTED MITOCHONDRIAL DISORDERS

Doina Secu^{1,2}, Natalia Ușurelu¹, Daniela Blăniță¹,
Victoria Sacară¹

Scientific adviser: Victoria Sacară¹

¹Institute of Mother and Child

²Department of Molecular Biology and Human Genetics, Nicolae Testemițanu University

Background. Mitochondrial disorders (MD) are rare genetic conditions disrupting cellular energy production due to mutations in nuclear or mitochondrial DNA (mtDNA). These disorders, occurring in 1 in 5,000 live births and exhibiting a wide range of symptoms affecting various organ systems, make diagnosis and management particularly challenging, so achieving an accurate and prompt genetic diagnosis is crucial for effective management, prognosis, and counseling. **The objective of the study** is to characterize the biochemical and molecular genetic profiles of pediatric patients presenting with symptoms indicative of MD. **Material and methods.** A cohort of 100 patients exhibiting symptoms suggestive of MD was screened for seven common pathogenic mtDNA point mutations using quantitative PCR high-resolution melting (qPCR-HRM) analysis, followed by Sanger sequencing. Furthermore, quantitative assays were performed to measure plasma amino acids and urinary organic acids. **Results.** Upon enrollment, all patients were systematically evaluated using the Nijmegen MD scoring system. In the cohort, 24 patients were classified as possible MD, 39 as probable MD, and 37 as definite MD. All individuals classified as having definite MD demonstrated elevated serum lactate levels, with 19 also presenting increased alanine concentrations. Abnormal urinary organic acid profiles were identified in twelve patients. The qPCR-HRM analysis detected mtDNA pathogenic mutations in four patients (m.3243 A>G, m.8993 T>G in two patients, and m.11778 G>A). Sanger sequencing of 21 mtDNA genes in 55 patients revealed pathogenic or potentially pathogenic mutations associated with MD in 19 individuals (34%). **Conclusion.** In a cohort of 100 patients referred for clinical assessment due to suspected MD, 23 individuals were identified to harbor pathogenic or potentially pathogenic variants closely aligned with their phenotypic presentation. **Keywords:** mtDNA mutation, qPCR-HRM analysis, Sanger sequencing.

Studiu realizat cu suportul proiectului 20.800009.8007.22 „Medicina Genomică și Metabolomică în serviciul profilaxiei maladiilor genetice pentru generații sănătoase în Republica Moldova” din cadrul Programului de Stat (2020-2023), conducător de proiect: Ușurelu Natalia, dr. șt. med., conf. cercet, autoritatea contractantă: Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.