

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам биоинформатического анализа
данных секвенирования ДНК
(полное секвенирование генома)

СВЕДЕНИЯ ОБ ОБСЛЕДУЕМОМ		СВЕДЕНИЯ ОБ ОБРАЗЦЕ	
Обследуемый	Стульников Максим Игоревич	Дата поступления образца	10.04.2024
Дата рождения	27.04.2023	Материал для анализа	Периферическая кровь
Пол	Мужской	Внутренний номер	D20160

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Направляющий врач	Люкшина Н.Г.
Направительный диагноз	ВПР головного мозга: агенезия мозолистого тела, микроцефалия. Задержка психо-моторного развития. Множественные лицевые дисморфии. Сходящееся косоглазие. Синдром Кабуки?
Клинические характеристики	Задержка психо-моторного развития. В 6 мес эпизод с отведением руки и поворотом головы с плачем. МРТ: агенезия мозолистого тела, гипоплазия и мальротация гиппокампов. ЭЭГ: регистрируется эпилептиформная активность. Микроаномалии развития. ФОО, двустворчатый клапан аорты?

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ, ВОЗМОЖНО ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К ФЕНОТИПУ

Ген	Ассоциированное заболевание (Номер ОМИМ; Тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
<i>FOXG1</i>	Синдром Ретта, врожденный вариант (613454; AD)	chr14:g.29236945G>T ENST00000382535.3: c.460G>T ENSP00000371975.3: p.Glu154Ter	Гетерозигота	0	Патогенный	-	Патогенный

Обнаружен ранее описанный в литературе вариант (rs1057520780) в гетерозиготном состоянии во 2 экзоне (из 2) гена *FOXG1*, приводящий к появлению стоп-кодона и преждевременной терминации трансляции белка (p.Glu154Ter, мутация типа нонсенс).

Патогенные гетерозиготные варианты в данном гене могут приводить к развитию синдрома Ретта. Обнаруженный вариант был описан в гетерозиготном состоянии у пациентов с нарушением нервно-психического развития:

- Lindy AS, et al. Diagnostic outcomes for genetic testing of 70 genes in 8565 patients with epilepsy and neurodevelopmental disorders. *Epilepsia*. 2018 May;59(5):1062-1071. doi: 10.1111/epi.14074. Epub 2018 Apr 14. PMID: 29655203.
- Wilpert NM, et al. Human neuropathology confirms projection neuron and interneuron defects and delayed oligodendrocyte production and maturation in FOXG1 syndrome. *Eur J Med Genet*. 2021 Sep;64(9):104282. doi: 10.1016/j.ejmg.2021.104282. Epub 2021 Jul 17. PMID: 34284163.

Вариант отсутствует в базе данных популяционных частот gnomAD.

В базе данных ClinVar вариант описан как патогенный (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/379912>).

Вариант расценивается как патогенный.

СТРУКТУРНЫЕ ВАРИАНТЫ, ВОЗМОЖНО ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К ФЕНОТИПУ

НЕ ОБНАРУЖЕНО

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК, ВОЗМОЖНО ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К ФЕНОТИПУ

НЕ ОБНАРУЖЕНО

ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ В ГЕНАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ К ПРОВЕРКЕ

Ген	Ассоциированное заболевание (Номер ОМИМ; Тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
<i>TTN</i>	Дилатационная кардиомиопатия, тип 1G (604145; AD)	chr2:g.179454897G>A ENST00000589042.1: c.61555C>T ENSP00000467141.1: p.Arg20519Ter	Гетерозигота	0	Патогенный	-	Вероятно патогенный

Обнаружен ранее не описанный в литературе вариант (rs794729278) в гетерозиготном состоянии в 304 экзоне (из 363) гена *TTN*, приводящий к появлению стоп-кодона и преждевременной терминации трансляции белка (p.Arg20519Ter, мутация типа нонсенс).

Патогенные гетерозиготные варианты в данном гене могут приводить к развитию дилатационной кардиомиопатии:

- Roberts AM, et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med*. 2015 Jan 14;7(270):270ra6. doi: 10.1126/scitranslmed.3010134. PMID: 25589632; PMCID: PMC4560092
- Schafer S, et al. Titin-truncating variants affect heart function in disease cohorts and the general population. *Nat Genet*. 2017 Jan;49(1):46-53. doi: 10.1038/ng.3719. Epub 2016 Nov 21. PMID: 27869827

Патогенные гетерозиготные варианты в данном гене могут также приводить к семейной гипертрофической кардиомиопатии, тип 9 (613765; AD), миофибриллярной миопатии, тип 9, с ранней дыхательной недостаточностью (603689; AD) и тибальной мышечной дистрофии с поздним началом (600334; AD). Патогенные биаллельные в гене TTN могут также приводить к врожденной миопатии, тип 5, в сочетании с кардиомиопатией (611705; AR).

Вариант отсутствует в базе данных популяционных частот gnomAD.

В базе данных ClinVar вариант описан как патогенный, вероятно патогенный (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/202397>).

Вариант присутствует в курируемой базе данных Global Variome shared LOVD, классифицирован как патогенный (<https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000947499#00001778>).

Вариант расценивается как вероятно патогенный (вторичный).

В целях уточнения клинической значимости варианта рекомендуется анализ его наследования от родителей (проверка на статус de novo или косегрегацию с заболеванием).

* AR, Autosomal recessive, аутосомно-рецессивный тип наследования
AD, Autosomal dominant, аутосомно-доминантный тип наследования

Для интерпретации результатов исследования необходима консультация врача-генетика.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прибор	Illumina NovaSeq 6000	Среднее покрытие	38x
Набор для пробоподготовки	TruSeq DNA PCR-Free	Процент целевых нуклеотидов с покрытием >10X	98,7%

Дата выдачи заключения: 21.08.2024

Биоинформатик

Капитонова

О.С. Капитонова

Врач-лабораторный генетик



В.С. Каймонов

Врач-генетик

Н.В. Ветрова

ТЕХНИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Секвенирование генома было проведено методом парно-концевых прочтений (2x151 п.о.) shotgun-библиотеки.

Исходные данные секвенирования в формате fastq могут быть предоставлены по запросу.

Данные секвенирования были проанализированы с помощью автоматизированного алгоритма, включающего в себя оценку параметров качества секвенирования (модуль FASTQC); удаление адаптеров и последовательностей с низким качеством (модуль SEQPURGE); выравнивание прочтений на версию GRCh37/hg19 генома человека и revised Cambridge Reference Sequence (rCRS) для митохондриальной ДНК (модуль BWA-MEM 2); фильтрацию оптических и ПЦР дубликатов (модуль SAMBLASTER); локальную оптимизацию выравниваний (модуль GATK); обнаружение вариантов и их фильтрация согласно качеству (пакет FREEBAYES) и аннотацию вариантов относительно баз данных с клинической информацией (модуль ENSEMBL-VEP).

При поиске клинически значимых генетических вариантов были отфильтрованы варианты, не влияющие на структуру белка и при этом не отмеченные как патогенные в базе данных ClinVar, а также все варианты, не отмеченные как патогенные в базе данных ClinVar, с максимальной частотой встречаемости в популяциях более 2%. Во всех генах, потенциально имеющих отношение к заболеванию пациента, каждый из вариантов был проанализирован на предмет влияния на структуру и функцию белка, эволюционную консервативность позиции, клинический статус, частоту встречаемости и тип наследования соответствующего гена и классифицирован в одну из пяти категорий (патогенные варианты, вероятно патогенные варианты, варианты неопределенной клинической значимости, вероятно безвредные варианты, безвредные) в соответствии с рекомендациями ACMG (7). Варианты из категорий «Патогенные варианты», «Вероятно патогенные варианты» и «Варианты неопределенной клинической значимости» включены в заключение в формате, соответствующем рекомендациям HGVS.

Повторный биоинформатический анализ исходных данных по запросу может быть проведен через год либо в случае уточнения фенотипа.

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ

МЕТОДИКА ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Полногеномное секвенирование – это секвенирование кодирующих и некодирующих последовательностей ДНК (более трех миллиардов пар нуклеотидов). С помощью технологии секвенирования генома можно определить последовательность 98-99% ДНК человека, и некоторые участки поддаются секвенированию с помощью этой методики несколько хуже. Способность метода выявить клинически значимый вариант зависит от того, в каком участке он находится.

Метод предназначен для поиска однонуклеотидных замен и небольших по длине инсерций/делеций в геноме человека, а также в митохондриальной ДНК. Некоторые другие типы генетических вариантов могут быть выявлены, но поддаются обнаружению с меньшей вероятностью, чем однонуклеотидные замены и небольшие инсерции и делеции: это относится, в частности, к изменениям числа коротких tandemных повторов.

Результативность обследования сильно зависит от наличия информации о варианте во внешних базах данных клинической информации. В настоящий момент изучение генетических заболеваний является приоритетным направлением исследований во всем мире, и базы данных с клинической информацией постоянно пополняются. В связи с этим повторное проведение биоинформатического анализа и интерпретации данных может быть рекомендовано спустя год или несколько лет для уточнения информации о наличии клинически значимых вариантов в геноме обследуемого.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Ввиду некоторых технических ограничений, секвенирование генома не может покрыть 100% ДНК обследуемого. Мы обеспечиваем необходимое для достоверного обнаружения гетерозиготных вариантов покрытие: не менее 10x для 98-99% генома.

Некоторые типы вариантов хуже поддаются выявлению методом полногеномного секвенирования, в том числе структурные изменения хромосом (инверсии, транслокации, делеции), полиплоидия, анеуплоидия, протяженные участки триплетных и других повторов, варианты в генах с наличием в геноме близкого по последовательности псевдогена или паралога, варианты в GC-богатых участках. Метод имеет ограниченную чувствительность в отношении вариантов в состоянии мозаицизма, а также гетероплазмы митохондриальной ДНК (детекция уровня гетероплазмы вариантов митохондриального генома составляет 10%). Чувствительность и специфичность обнаружения вариантов, находящихся в областях сегментарных дупликаций, могут быть низкими. Эпигенетические варианты не поддаются выявлению с помощью данного метода.

Результаты клинического секвенирования всегда интерпретируются в контексте клинической картины, семейной истории и других лабораторных данных. Изучаются только варианты, которые потенциально могут иметь отношение к моногенным рецессивным заболеваниям, а также побочно и случайно выявленные варианты, имеющие клиническое значение, если таковые обнаружены. Результаты секвенирования генома могут быть интерпретированы неверно, если предоставленная информация ошибочна или неполна. Некоторые медицинские процедуры, такие как пересадка костного мозга или переливание крови могут привести к неверным результатам. Редкие безвредные варианты могут быть классифицированы неверно. Выявленные варианты не всегда объясняют все клинические проявления у пациента. Предоставление большего количества клинически значимой информации может помочь более точной оценке значимости выявленных вариантов.

ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ

ACMG разработал рекомендации (8) по предоставлению информации пациенту о патогенных и вероятно патогенных вариантах, присутствующих в некоторых генах (ACTA2, ACTC1, ACVRL1, APC, APOB, ATP7B, BAG3, BMP1A, BRCA1, BRCA2, BTBD, CACNA1S, CASQ2, COL3A1, DES, DSC2, DSG2, DSP, ENG, FBN1, FLNC, GAA, GLA, HFE, HNF1A, KCNH2, KCNQ1, LDLR, LMNA, MAX, MEN1, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, NF2, OTC, PALB2, PCSK9, PKP2, PMS2, PRKAG2, PTEN, RB1, RBM20, RET, RPE65, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD3, SMAD4, STK11, TGFBF1, TGFBF2, TMEM127, TMEM43, TNNC1, TNNT2, TP53, TRPM1, TRDN, TSC1, TSC2, TTN, TTR, VHL, WT1). Эти гены связаны с определенными генетическими заболеваниями, нуждающимися в медицинском контроле. В случае обнаружения вариантов в этих генах необходима консультация врача-генетика.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА И РЕСУРСЫ

1. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
2. Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
3. Genome Aggregation Database (gnomAD). <http://gnomad.broadinstitute.org/>
4. ClinVar. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
5. Clinical Genome Resource, ClinGene. <https://www.clinicalgenome.org/>
6. Ensembl. <http://www.ensembl.org/index.html>
7. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015
8. Miller DT, et al. ACMG SF v3.1 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2022 Jul;24(7):1407-1414
9. Sequence Variant Nomenclature <https://varnomen.hgvs.org/>