

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

СВЕДЕНИЯ О ПАЦИЕНТЕ		СВЕДЕНИЯ ОБ ОБРАЗЦЕ	
Пациент	ФИО	Дата поступления образца	дд.мм.гггг
Дата рождения	дд.мм.гггг	Материал для анализа	Кровь
Пол	-	Внутренний номер	-

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ	
Направляющий врач	-
Предположительный диагноз	Буллезный эпидермолиз, дистрофический тип?
Клинические характеристики	-

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ, ВОЗМОЖНО ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К ФЕНОТИПУ							
Ген	Ассоциированное заболевание (Номер OMIM; тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
COL7A1	Дистрофический буллезный эпидермолиз, аутосомно-рецессивный (226600; AR)	chr3:g.48612870C>T ENST00000328333.8: c.6082G>A ENSP00000332371.8: p.Gly2028Arg	Гетерозигота	0	Патогенный (FATHMM-XF, REVEL, PROVEAN)	Консервативный	Патогенный
	Дистрофический буллезный эпидермолиз, аутосомно-доминантный (131750; AD)						
	Дистрофический буллезный эпидермолиз, тип Барта (132000; AD)						
	Буллезный эпидермолиз, пруригинозный тип (604129; AD, AR)						
	Буллезный эпидермолиз, претибиальный тип (131850; AD, AR)						
	Дистрофия ногтей пальцев ног, изолированная (607523; AD)						
Буллезный дермолиз новорожденных (131705; AD, AR)							
<p>Обнаружен ранее описанный в литературе вариант (rs762162799) в гетерозиготном состоянии в экзоне 73 (из 118) гена COL7A1, приводящий к замене аминокислоты глицин на аргинин в положении 2028 (p.Gly2028Arg, мутация типа миссенс).</p> <p>Патогенные варианты в данном гене могут приводить к развитию доминантных и рецессивных форм буллезного эпидермолиза. Обнаруженный вариант был описан у пациентов как с рецессивным, так и с доминантным дистрофическим буллезным эпидермолизом.</p> <ol style="list-style-type: none"> van den Akker PC, van Essen AJ, Kraak MM, et al. Long-term follow-up of patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa in the Netherlands: expansion of the mutation database and unusual phenotype-genotype correlations. J Dermatol Sci. 2009 Oct;56(1):9-18. doi: 10.1016/j.jdermsci.2009.06.015. Epub 2009 Aug 8. PMID: 19665875. Schumann H, Has C, Kohlhase J, Bruckner-Tuderman L. Dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa is not associated with frequent FLG gene mutations. Br J Dermatol. 2008 Aug;159(2):464-9. doi: 10.1111/j.1365-2133.2008.08695.x. Epub 2008 Jun 28. PMID: 18565177. Almaani N, Liu L, Dopping-Hepenstal PJ, et al. Identical glycine substitution mutations in type VII collagen may underlie both dominant and recessive forms of dystrophic epidermolysis bullosa. Acta Derm Venereol. 2011 May;91(3):262-6. doi: 10.2340/00015555-1053. PMID: 21448560. <p>Вариант отсутствует в базе данных популяционных частот gnomAD, однако присутствует вариант chr3:g.48612870C>G, который приводит к такой же аминокислотной замене (частота 0,0004%, 1 носитель).</p> <p>Результаты in silico алгоритмов предсказания эффекта вариантов свидетельствуют о патогенном (FATHMM-XF, REVEL, PROVEAN) влиянии данной замены на структуру белка. Вариант затрагивает консервативную аминокислоту.</p> <p>В базе данных ClinVar вариант описан как патогенный (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/379476/).</p> <p>Вариант присутствует в курируемой базе данных Global Variome shared LOVD, классифицирован как патогенный (https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000579512#00000019).</p> <p>Вариант расценивается как патогенный.</p>							

Ген	Ассоциированное заболевание (Номер ОММ; тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
COL7A1	<p>Дистрофический буллезный эпидермолиз, аутосомно-рецессивный (226600; AR)</p> <p>Дистрофический буллезный эпидермолиз, аутосомно-доминантный (131750; AD)</p> <p>Дистрофический буллезный эпидермолиз, тип Барта (132000; AD)</p> <p>Буллезный эпидермолиз, пруригинозный тип (604129; AD, AR)</p> <p>Буллезный эпидермолиз, претибиальный тип (131850; AD, AR)</p> <p>Дистрофия ногтей пальцев ног, изолированная (607523; AD)</p> <p>Буллезный дермолиз новорожденных (131705; AD, AR)</p>	<p>chr3:g.48621761dup ENST00000328333.8: c.4172dup ENSP00000332371.8: p.Gly1392ArgfsTer10</p>	Гетерозигота	0	Патогенный	-	Вероятно патогенный
<p>Обнаружен ранее не описанный в литературе вариант в гетерозиготном состоянии в экзоне 36 (из 118) гена COL7A1, приводящий к сдвигу рамки считывания и преждевременной терминации трансляции белка (p.Gly1392ArgfsTer10, мутация типа фреймшифт). Патогенные варианты в данном гене могут приводить к развитию доминантных и рецессивных форм буллезного эпидермолиза. 1. Wertheim-Tysarowska K, Sobczyńska-Tomaszewska A, Kowalewski C, et al. Novel and recurrent COL7A1 mutation in a Polish population. Eur J Dermatol. 2012 Jan-Feb;22(1):23-8. doi: 10.1684/ejd.2011.1583. PMID: 22266148. Вариант отсутствует в базе данных популяционных частот gnomAD. Вариант расценивается как вероятно патогенный. Обнаруженные варианты в гене COL7A1 могут образовывать компаунд-гетерозиготу. В целях подтверждения каузативности обнаруженных вариантов рекомендуется анализ их наследования от родителей.</p>							
ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ В ГЕНАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ К ПРОВЕРКЕ							
НЕ ОБНАРУЖЕНО							
<p>* AR, Autosomal recessive, аутосомно-рецессивный тип наследования AD, Autosomal dominant, аутосомно-доминантный тип наследования</p>							

Для интерпретации результатов исследования необходима консультация врача-генетика.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прибор	Illumina NovaSeq 6000	Среднее покрытие	XXXx
Система целевого обогащения	Sure Select all Exon V7	Процент целевых нуклеотидов с покрытием >10X	XX%

Дата выдачи заключения: дд.мм.гггг

Биоинформатик

Врач-лабораторный генетик

Врач-генетик

ТЕХНИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Секвенирование белок кодирующих генов человека методом парно-концевых прочтений, было проведено с использованием целевого обогащения геномной ДНК.

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

Данные секвенирования были проанализированы с помощью автоматизированного алгоритма, заключающего в себя оценку параметров качества секвенирования (модуль FASTQC); удаление адаптеров и последовательностей с низким качеством (модуль SEQPURGE); выравнивание прочтений на версию hg19 генома человека (модуль BWA MEM); фильтрацию оптических и ПЦР дубликатов (модуль SAMBLASTER); локальную оптимизацию выравниваний (модуль ABRA2); обнаружение вариантов и их фильтрация согласно качеству (пакет FREEBAYES) и аннотацию вариантов относительно баз данных с клинической информацией (модуль ENSEMBL-VEP).

Алгоритм был протестирован на экзомных данных, для которых существует расшифровка генома «золотого стандарта» (данные Genome in a Bottle). Чувствительность алгоритма составила 98,6% и средняя специфичность 99,1%.

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 неопределенного значения, вероятно безвредные варианты, безвредные варианты) в соответствии с рекомендациями ACMG (7). Варианты из категорий «Патогенные варианты», «Вероятно патогенные варианты» и «Варианты неопределенного значения» 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 ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Полноэкзомное секвенирование - это секвенирование всех белок-кодирующих генов человека (приблизительно 20 000), а секвенирование экзома с клинической целью – это секвенирование порядка 5000 генов, про которые на настоящий момент известна ассоциация с генетическими болезнями или признаками. Экзом составляет всего ~1% от полного генома человека, но приблизительно 85% всех болезнетворных вариантов находятся именно в белок-кодирующих областях. С помощью технологии секвенирования экзома можно определить последовательность 90-95% целевых участков человека, и некоторые участки поддаются секвенированию с помощью этой методики несколько хуже. Способность метода выявить болезнетворный вариант зависит от того, в каком участке он находится.

Метод предназначен для поиска однонуклеотидных замен в кодирующих участках генов человека. Некоторые другие типы генетических вариантов могут быть выявлены, но поддаются обнаружению с меньшей вероятностью, чем однонуклеотидные замены: это относится, в частности, к коротким делециям или вставкам (инделам) и изменениям числа коротких tandemных повторов.

Результативность обследования сильно зависит от наличия информации о варианте во внешних базах данных клинической информации, а также от изученности генетического заболевания пациента. В настоящий момент изучение генетических заболеваний является приоритетным направлением исследований во всем мире, и базы данных с клинической информацией постоянно пополняются. В практике клинического секвенирования экзома процент диагностированных случаев растет с каждым годом, поэтому в некоторых случаях переанализ данных секвенирования через некоторое время может привести к установлению диагноза, даже если изначально он не был поставлен.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Ввиду некоторых технических ограничений, секвенирование экзома не может покрыть 100% целевых участков. Мы обеспечиваем необходимое для достоверного обнаружения гетерозиготных вариантов покрытие: не менее 10x для 90% целевых участков. Частота ошибочно обнаруженных вариантов при секвенировании экзома в среднем составляет не больше 1%, но в отдельных участках может достигать 5%, поэтому релевантные варианты рекомендуется подтверждать независимым секвенированием по Сэнгеру или другими референсными методами, если такая возможность существует.

Некоторые типы вариантов поддаются выявлению методом экзомного секвенирования плохо, 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, варианты в интронах за пределами стандартных сайтов сплайсинга, а также эпигенетические варианты. Метод имеет ограниченную чувствительность в отношении вариантов в состоянии мозаицизма. Чувствительность и специфичность обнаружения вариантов, находящихся в областях сегментарных дупликаций, могут быть низкими.

Результаты клинического секвенирования всегда интерпретируются в контексте клинической картины, семейной истории и других лабораторных данных. Изучаются только варианты, которые потенциально могут иметь отношение к заболеванию пациента. Результаты секвенирования экзома 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 большого 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 (ACT2, ACTC1, APC, APOB, ATP7B, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, CACNA1S, COL3A1, DSC2, DSG2, DSP, FBN1, GLA, KCNH2, KCNQ1, LDLR, LMNA, MEN1, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, NF2, OTC, PCSK9, PKP2, PMS2, PRKAG2, PTEN, RB1, RET, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD3, SMAD4, STK11, TGFB1, TGFB2, TMEM43, TNNI3, TNNT2, TP53, TPM1, TSC1, TSC2, 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. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. Genet Med. 2017