

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

СВЕДЕНИЯ О ПАЦИЕНТЕ		СВЕДЕНИЯ ОБ ОБРАЗЦЕ	
Пациент	-	Дата поступления образца	-
Дата рождения	-	Материал для анализа	-
Пол	-	Внутренний номер	-

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ	
Направляющий врач	-
Предположительный диагноз	Планирование беременности.
Клинические характеристики	Смерть двоих детей на 1-ом году жизни с одинаковыми клиническими проявлениями заболевания: после периода относительного благополучия в 2-3 недели у обоих детей наблюдалось снижение зрительного контакта, ответов на зрительные стимулы, к 2-ум месяцам диагностировалась двусторонняя катаракта, наблюдались вялость, снижение рефлексов, снижение веса, нарушение ритма сердца, бульбарные расстройства, судороги.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

СТРУКТУРНЫЕ ВАРИАНТЫ, ВОЗМОЖНО ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К ФЕНОТИПУ					
Изменение ДНК (ISCN2016)	Ассоциированное заболевание (Номер ОМИМ; тип наследования*)	Затронутые морбидные гены	Число копий	Частота (DGV)	Классификация патогенности
seq[GRCh37]del(1)(p36.33) chr1:g.1417437_1454523del	Синдром понтоцереbellарной гипоплазии, гипотонии и дыхательной недостаточности, неонатальный летальный тип (618810; AR) Синдром Харел-Юна (617183; AD, AR)	ATAD3A	1	0,05%	Патогенный
<p>Получены данные в пользу наличия делеции участка хромосомы 1 с приблизительными границами 1417437-1454523 пар оснований (регион хромосомы 1p36.33, ~37kb), захватывающей область генов ATAD3A и ATAD3B.</p> <p>Найденная делеция, в результате которой образуется фьюжн-ген ATAD3B/ATAD3A, описана в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии у пациентов с понтоцереbellарной гипоплазией, гипотонией, дыхательной недостаточностью и другими нарушениями:</p> <ol style="list-style-type: none"> Desai R, Frazier AE, Durigon R, et al. ATAD3 gene cluster deletions cause cerebellar dysfunction associated with altered mitochondrial DNA and cholesterol metabolism. Brain. 2017 Jun 1;140(6):1595-1610. doi: 10.1093/brain/awx094. PMID: 28549128; PMCID: PMC5445257. Harel T, Yoon WH, Garone C, et al. Recurrent De Novo and Biallelic Variation of ATAD3A, Encoding a Mitochondrial Membrane Protein, Results in Distinct Neurological Syndromes. Am J Hum Genet. 2016 Oct 6;99(4):831-845. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.08.007. Epub 2016 Sep 15. PMID: 27640307; PMCID: PMC5065660. Dorison N, Gaignard P, Bayot A, et al. Mitochondrial dysfunction caused by novel ATAD3A mutations. Mol Genet Metab. 2020 Sep-Oct;131(1-2):107-113. doi: 10.1016/j.ymgme.2020.09.002. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32933822. <p>В общепопуляционной базе данных Database of Genomic Variants этот вариант встречается с частотой 0,05%.</p> <p>В базе клинических данных Decipher зарегистрирован вариант с близкими координатами, клиническая значимость которого неизвестна (Decipher Samples 295212).</p> <p>Делецию следует расценивать как патогенную в случае подтверждения референсным методом.</p> <p>Данный вариант обнаружен в гетерозиготном состоянии и не может вызывать описанный фенотип при отсутствии патогенных вариантов во второй копии гена.</p> <p>У супруга обнаружен гетерозиготный вариант неизвестной клинической значимости в гене ATAD3A.</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	122x
Система целевого обогащения	Sure Select all Exon V7	Процент целевых нуклеотидов с покрытием >10X	98,8%

Дата выдачи заключения:

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 безвредных 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 безвредный 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 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 (ACT2, ACTC1, APC, APOB, ATP7B, BMP1A, 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. DECIPHER (Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources) (<https://decipher.sanger.ac.uk/>)
8. Database of Genomic Variants (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)
9. 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
10. 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
11. Антоненко В.Г., Шилова Н.В. О новой версии Международной системы цитогенетической номенклатуры ISCN-2016. Медицинская генетика. 2018;17(6):11-17. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.06.11-17>