

ЗАКЛЮЧЕНИЕ
по результатам биоинформатического анализа
данных секвенирования ДНК
(NGS-панель «Болезни обмена веществ»)

СВЕДЕНИЯ ОБ ОБСЛЕДУЕМОМ		СВЕДЕНИЯ ОБ ОБРАЗЦЕ	
Обследуемый	-	Дата поступления образца	-
Дата рождения	-	Материал для анализа	Периферическая кровь
Пол	-	Внутренний номер	-

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ	
Направляющий врач	-
Направительный диагноз	Гиперхолестеринемия с повышением ЛПНП. Стеатогепатит
Клинические характеристики	-

РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ

НОСИТЕЛЬСТВО ВАРИАНТОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕЦЕССИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ							
Ген	Ассоциированное заболевание (Номер ОМИМ; тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
LIPA	Дефицит лизосомальной кислой липазы (278000; AR) Болезнь Вольмана (620151; AR)	chr10:g.90982268C>T ENST00000336233.5: c.894G>A ENSP00000337354.5: p.Gln298Gln	Гомозигота	0,0899%	Патогенный (SpliceAI, Ada score)	-	Патогенный
Обнаружен ранее описанный в литературе вариант (rs116928232) в гомозиготном состоянии в 8 экзоне (из 10) гена LIPA, приводящий к синонимичной замене, но нарушающий канонический сайт сплайсинга, поскольку расположен на границе экзона и интрона (c.894G>A, p.Gln298Gln). Патогенные биаллельные варианты в данном гене могут приводить к дефициту лизосомальной кислой липазы, а также к болезни Вольмана. Обнаруженный вариант – один из самых часто встречающихся патогенных вариантов в этом гене, он был описан в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии у пациентов с этим состоянием. В функциональных исследованиях было показано, что наличие варианта приводит к нарушению сплайсинга и образованию нефункционального транскрипта с пропущенным 8 экзоном: 1. Fasano T, Pisciotta L, Bocchi L, Guardamagna O, Assandro P, Rabacchi C, Zanon P, Filocamo M, Bertolini S, Calandra S. Lysosomal lipase deficiency: molecular characterization of eleven patients with Wolman or cholesteryl ester storage disease. Mol Genet Metab. 2012 Mar;105(3):450-6. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.12.008. Epub 2011 Dec 17. PMID: 22227072. 2. Hoffman EP, Barr ML, Giovanni MA, Murray MF. Lysosomal Acid Lipase Deficiency. 2015 Jul 30 [updated 2016 Sep 1]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2021. PMID: 26225414. Вариант присутствует в базе данных популяционных частот gnomAD с частотой 0,0899% (254 гетерозиготных носителя, гомозигот не зарегистрировано). Результаты in silico алгоритмов предсказания эффекта вариантов (SpliceAI, Ada score) свидетельствуют о патогенном влиянии данной замены на сплайсинг. В базе данных ClinVar вариант описан как патогенный, вероятно патогенный (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/203361). Вариант присутствует в курируемой базе данных Global Variome shared LOVD, классифицирован как патогенный, вероятно патогенный (https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000279111#00025258). Вариант расценивается как патогенный.							
ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ В ГЕНАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ К ПРОВЕРКЕ							
НЕ ОБНАРУЖЕНО							
* AR, Autosomal recessive, аутосомно-рецессивный тип наследования							

Для интерпретации результатов исследования необходима консультация врача-генетика.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Дата выдачи заключения:

Биоинформатик

Заведующий лабораторией NGS

Врач-генетик

ТЕХНИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

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

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 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 ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Полноэкзомное секвенирование – это секвенирование всех белок-кодирующих генов человека (приблизительно 20 000), а секвенирование экзона 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 экзона 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 экзона 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 экзона 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 экзона 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 экзона 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.

СПИСОК ГЕНОВ, ВХОДЯЩИХ В ПАНЕЛЬ

В панель «NGS-панель «Болезни обмена веществ»» входит следующий список генов: AARS2, AASS, ABAT, ABCA1, ABCB11, ABCB4, ABCB6, ABCC8, ABCD1, ABCD3, ABCD4, ABCG5, ABCG8, ACACA, ACAD8, ACAD9, ACADM, ACADS, ACADSB, ACADVL, ACAT1, ACAT2, ACOX1, ACOX2, ACSF3, ACY1, ADA, ADAMTSL2, ADAR, ADK, ADSL, AGA, AGK, AGL, AGPAT2, AGPS, AGXT, AHCY, AIFM1, AKR1D1, AKT2, ALAD, ALAS2, ALDH3A2, ALDH4A1, ALDH5A1, ALDH6A1, ALDH7A1, ALDOA, ALDOB, ALG1, ALG11, ALG12, ALG13, ALG2, ALG3, ALG6, ALG8, ALG9, ALMS1, ALPL, AMACR, AMN, AMPD1, AMT, ANGPTL3, ANTXR2, APOA1, APOA2, APOA5, APOB, APOC2, APOC3, APOE, APRT, APTX, AQP2, ARG1, ARSA, ARSB, ASAH1, ASL, ASNS, ASPA, ASS1, ATIC, ATP13A2, ATP5F1A (ATP5A1), ATP5F1D (ATP5D), ATP5F1E (ATP5E), ATP5MK (ATP5MD), ATP6AP1, ATP6AP2, ATP7A, ATP7B, ATP8B1, ATPAF2, AUH, AVP, AVPR2, B4GALT1, BAAT, BCAT2, BCKDHA, BCKDHB, BCKDK, BCS1L, BLK, BLVRA, BOLA3, BSCL2, BTBD, C19ORF12, C1QBP, C2ORF69, CA5A, CACNA1D, CACNA1S, CARS2, CASR, CAT, CAV1, CAVIN1 (PTRF), CBLIF (GIF), CBS, CCDC115, CD320, CEL, CEP19, CETP, CFTR, CHCHD10, CLCN5, CLDN16, CLDN19, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CLPB, CLPX, CNM2, COA3, COA5, COA6, COA8 (APOPT1), COASY, COG1, COG2, COG4, COG5, COG6, COG7, COG8, COQ2, COQ4, COQ5, COQ6, COQ7, COQ8A (ADCK3), COQ9, COX10, COX14, COX15, COX16, COX20, COX4I1, COX5A, COX6A2, COX6B1, COX8A, CP, CPOX, CPS1, CPT1A, CPT2, CRAT, CSF1R, CTN5, CTSA, CTSD, CTSF, CTSK, CUL3, CYP11B2, CYP24A1, CYP27A1, CYP27B1, CYP2R1, CYP7B1, D2HGDH, DARS2, DBH, DBT, DDC, DDOST, DGUOK, DHCR24, DHCR7, DHDDS, DHFR, DHTKD1, DLAT, DLD, DMDGDH, DMP1, DNAJC12, DNAJC19, DNAJC5, DNM1L, DOLK, DPAGT1, DPM1, DPM2, DPYD, DPYS, DYRK1B, EARS2, EBP, ECHS1, EDEM3, EGF, EIF2AK3, ELAC2, ENO3, ENPP1, ETFA, ETFB, ETHE1, ETHE2, FAN, FAR1, FARS2, FASTKD2, FBP1, FBXL4, FCSK (FUK), FDX2 (FDX1L), FECH, FGF23, FH, FLAD1, FMO3, FOLR1, FOXP3, FOXRED1, FTCD, FTH1, FTL, FUCA1,

FUT8, FXYD2, G6PC1 (G6PC), G6PD, GAA, GALT, GALK1, GALT, GALT, GAMT, GATB (PET112), GATC, GATM, GBA, GBE1, GCDH, GCH1, GCK, GCLC, GCSH, GFAP, GFER, GFM1, GFM2, GHR, GK, GLA, GLB1, GLDC, GLIS3, GLRX5, GLUD1, GLUL, GLYCTK, GM2A, GNA11, GNAS, GNE, GNMT, GNPAT, GNPTAB, GNPTG, GNS, GPAA1, GPC3, GPD1, GPHN, GPI, GPIHBP1, GPX1, GRHR, GRN, GSR, GSS, GTPBP3, GUSB, GYG1, GYS1, GYS2, HADH, HADHA, HADHB, HCFC1, HEXA, HEXB, HFE, HGD, HGSNAT, HIBCH, HK1, HLCS, HMBS, HMGCL, HMGCS2, HNF1A, HNF1B, HNF4A, HOGA1, HPD, HPRT1, HRAS, HSD17B10, HSD17B4, HSD3B2, HSD3B7, HSPD1, HTRA2, HYAL1, IBA57, IDH2, IDS, IDUA, IER3IP1, IFIH1, INS, INSR, ISCA1, ISCA2, ISCU, IVD, KARS1 (KARS), KCNJ10, KCNJ11, KDM6A, KIF12, KLF11, KLHL3, L2HGDH, LAMP2, LARS2, LCAT, LCT, LDHA, LDLR, LDLRAP1, LEP, LEPR, LIAS, LIPA, LIPC, LIPE, LIPT1, LIPT2, LMBRD1, LMF1, LMNA, LPIN1, LPL, LRPPRC, LYRM4, LYRM7, MAGEL2, MAGT1, MAN1B1, MAN2B1, MANBA, MAOA, MARS2, MAT1A, MC4R, MCCC1, MCCC2, MCEE, MCOLN1, MFF, MFSD8, MGAT2, MGME1, MICOS13 (C19orf70), MIEF2, MIEP, MLYCD, MMAA, MMAB, MMACHC, MMADHC, MMUT (MUT), MOCOS, MOCS1, MOCS2, MOGS, MPC1, MPDU1, MPI, MPV17, MRM2 (FTSJ2), MRPL12, MRPL3, MRPL44, MRPS14, MRPS16, MRPS2, MRPS22, MRPS23, MRPS25, MRPS28, MRPS34, MRPS7, MSTO1, MTFMT, MTHFD1, MTHFR, MTO1, MTPAP, MTR, MTRFR (C12ORF65), MTRR, MTPP, MVK, NADK2, NAGA, NAGLU, NAGS, NARS2, NDUFA1, NDUFA10, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2, NDUFA4, NDUFA6, NDUFA8, NDUFA9, NDUFAF1, NDUFAF2, NDUFAF3, NDUFAF4, NDUFAF5, NDUFAF6, NDUFAF8 (C17orf89), NDUFB10, NDUFB11, NDUFB3, NDUFB8, NDUFB9, NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS5, NDUFS6, NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFV2, NEU1, NEUROD1, NEUROG3, NFE2L2, NFS1, NFU1, NGLY1, NPC1, NPC2, NROB2, NR1H4, NR3C2, NSUN3, NTRK2, NUBPL, NUS1, OAT, OCRL, OGDH, OPA1, OPA3, OPLAH, OSGEP, OTC, OXCT1, PAH, PANK2, PAX4, PC, PCBD1, PCCA, PCCB, PCK1, PCK2, PCSK1, PCSK9, PDHA1, PDHB, PDHX, PDP1, PDSS1, PDSS2, PDX1, PEPD, PET100, PET117, PEX1, PEX10, PEX11B, PEX12, PEX13, PEX14, PEX16, PEX19, PEX2, PEX26, PEX3, PEX5, PEX6, PEX7, PFKM, PGAM2, PGAP2, PGAP3, PGK1, PGM1, PHEX, PHGDH, PHKA1, PHKA2, PHKB, PHKG2, PHYH, PIGC, PIGM, PIGO, PIGV, PIGW, PIGY, PINK1, PKLR, PLA2G6, PLIN1, PLPBP (PROSC), PMM2, PMPCB, PNP, PNPLA2, PNPLA8, PNPO, PNPT1, POLD1, POLG, POLG2, POMC, PPARG, PPM1K, PPOX, PPP1R15B, PPT1, PRDX1, PRKAG2, PRODH, PRPS1, PSAP, PSAT1, PSPH, PTCDD3, PTF1A, PTS, PUS1, PYGL, PYGM, QDPR, QRSL1, RAI1, RARS2, REPS1, RFT1, RFX6, RMND1, RNASEH1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, RPIA, RRM2B, SAMHD1, SAR1B, SARS2, SC5D, SCN4A, SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G, SCO1, SCO2, SDHA, SDHAF1, SDHB, SDHD, SERAC1, SFXN4, SGSH, SI, SLC10A2, SLC12A3, SLC13A3, SLC16A1, SLC17A5, SLC19A1, SLC19A2, SLC19A3, SLC22A12, SLC22A5, SLC25A1, SLC25A10, SLC25A12, SLC25A13, SLC25A15, SLC25A19, SLC25A20, SLC25A21, SLC25A26, SLC25A3, SLC25A38, SLC25A4, SLC25A42, SLC2A1, SLC2A2, SLC2A9, SLC30A10, SLC33A1, SLC34A1, SLC34A3, SLC35A1, SLC35A2, SLC35C1, SLC37A4, SLC39A14, SLC39A4, SLC39A8, SLC3A1, SLC46A1, SLC51B, SLC52A2, SLC5A1, SLC6A19, SLC6A8, SLC6A9, SLC7A7, SLC7A9, SLC9A3R1, SLC10B1, SMPD1, SPR, SRD5A3, SSR4, STAR, STT3A, STT3B, SUCLA2, SUCLG1, SUGCT, SUMF1, SUOX, SURF1, TACO1, TAFAZZIN (TAZ), TALDO1, TANGO2, TARS2, TAT, TCN2, TFAM, TFR2, TH, TIMM22, TIMM50, TIMMDC1, TJP2, TK2, TMEM126B, TMEM165, TMEM199, TMEM70, TOP3A, TPI1, TPP1, TREX1, TRIT1, TRMT10A, TRMT10C, TRMT5, TRMU, TRPM6, TSFM, TTC19, TUB, TUFM, TUSC3, TWNK (C10ORF2), TXN2, TYMP, UGT1A1, UMPS, UPB1, UQCC2, UQCC3 (C11orf83), UQCRB, UQCRC2, UQCRCF1, UQCRQ, UROC1, UROD, UROS, USP53, VARS2, VDR, VIPAS39, VPS33A, WARS2, WDR45, WFS1, WNK4, XDH, YARS2, ZBTB20, ZFP57, ZMPSTE24.

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, BMPR1A, 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, TGFB1, TGFB2, TMEM127, TMEM43, TNNC1, TNNI3, TNNI2, TP53, TPM1, 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, ClinGen. <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/>