

# Алгоритм анализа и интерпретации генетических вариантов при наследственных болезнях обмена веществ



---

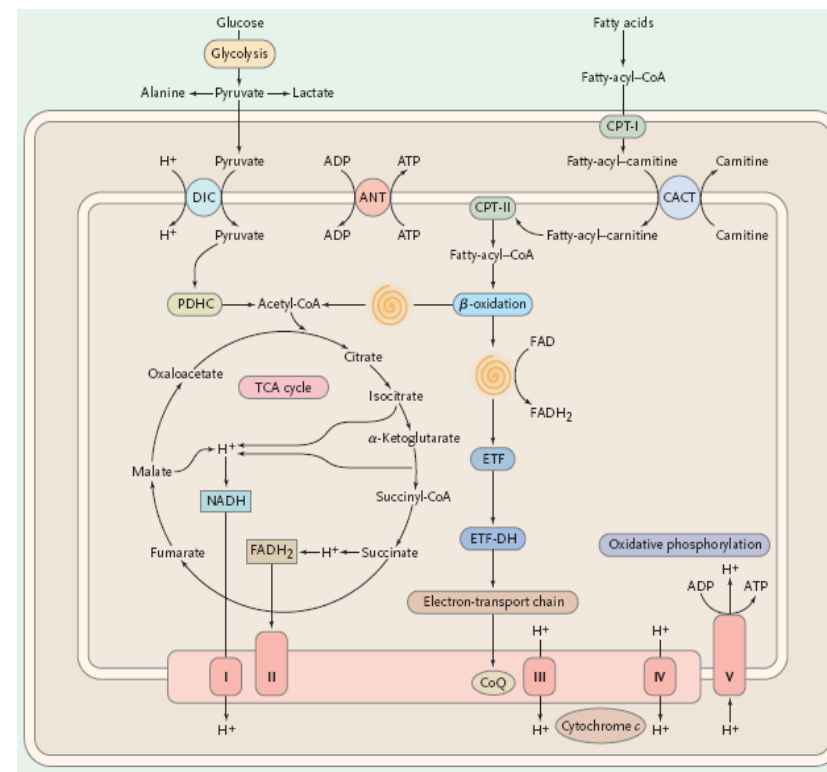
Юлия Иткис, лаборатория НБОВ, ФГБНУ “МГНЦ им. Н.П. Бочкова”

# Что такое НБО?

Обмен веществ — это совокупность взаимосвязанных биохимических процессов в организме.

Болезни клеточных органелл

- митохондрий,
- лизосом,
- пероксисом.



- отсутствие или недостаточность определённого фермента
- патологическое накопление токсических веществ.

# Характеристика НБО

- Поражение многих систем органов
- Очень разный возраст манифестации
- Обычно есть период нормального развития ребенка, после которого начинается регресс
- Клинические симптомы часто неспецифичны
- Многие заболевания чрезвычайно сходны по клиническим проявлениям
- Точная диагностика возможна только с помощью лабораторных методов

# Лабораторная диагностика НБО

- Б/х анализ биологических жидкостей:
  - Органические кислоты в моче
  - АК и ацилкарнитины в пятнах крови
  - Лизосомные ферменты в пятнах крови
  - Нарушение гликозилирования на ИЭФ
- Анализ МРТ головного мозга



# Стратегия молекулярной диагностики НБО



Достоверный биохимический  
анализ (и/или данные МРТ)



Поиск частых мутаций



Полный анализ генов:

*TS, WES, WGS*

Классический сценарий



NGS (*TS, WES, WGS*)



Биохимический анализ

Неклассический  
сценарий?



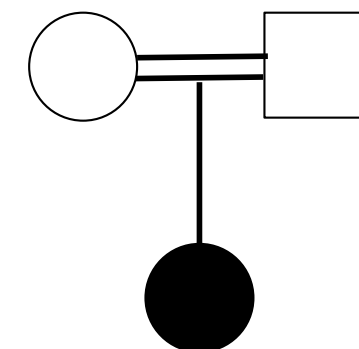
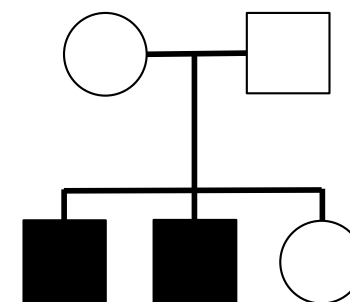
# Анализ данных NGS при ИБО



- Аннотация данных
- Оценка качества сиквенса, равномерное и хорошее покрытие?
- Анализ баз данных по мутациям, полиморфизмам, консервативности, частотам (*HGMD, dbSNP, ClinVar, ExAc, gnomAD, Uniprot*)
- Валидация выявленных замен у пробанда и родственников
- Биохимическое подтверждение, если возможно
- Функциональный анализ

# Важно обратить внимание

1. Если есть «биохимический диагноз», то в первую очередь провести тщательный анализ узкого круга соответствующих генов
2. Если болеют только мальчики, проверить X-сцепленное наследование
3. Если близкородственный брак, искать преимущественно варианты в ГОМОЗИГОТНОМ СОСТОЯНИИ



# Идеальный случай

Клинические данные указывают на определенное заболевание



Выявлено два описанных ранее патогенных варианта (АР насл-е)  
с хорошей глубиной покрытия



Клиническая картина соответствует «описанию гена»

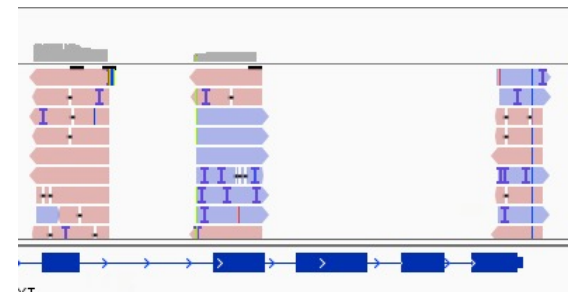
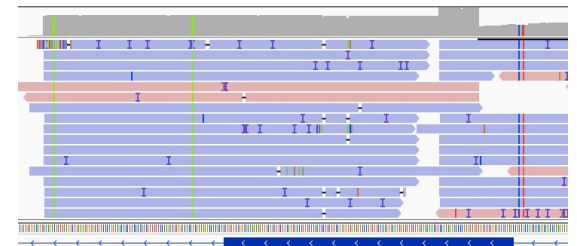


Подтверждено наследование аллелей от родителей

# Что делать в других случаях?

Найден только 1 «подходящий» вариант при AP  
наследовании или не найден ни один:

- Непокрытые участки  
(в т.ч. районы сплайсинга)
- Крупная перестройка в гене  
(характерны ли вообще)
- Синонимичные замены с низкой частотой
- Альтернативные транскрипты
- Описаны ли патогенные варианты в  
регуляторных областях гена



# Что делать в других случаях?

Возможно, вы столкнулись с не описанным ранее фенотипом,  
ассоциированным с данным геном

Если найдено

2 «вероятно патогенных» варианта в гене с АД-наследованием

1 «вероятно патогенный» вариант в гене с АР-наследованием



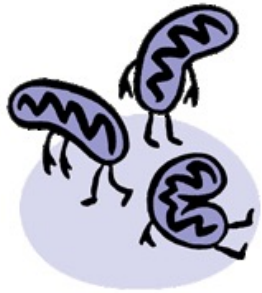
Анализ наследования аллелей от родителей

# Что делать в других случаях?

Найдены «вероятно патогенные» варианты, но это не согласуется с б/х данными

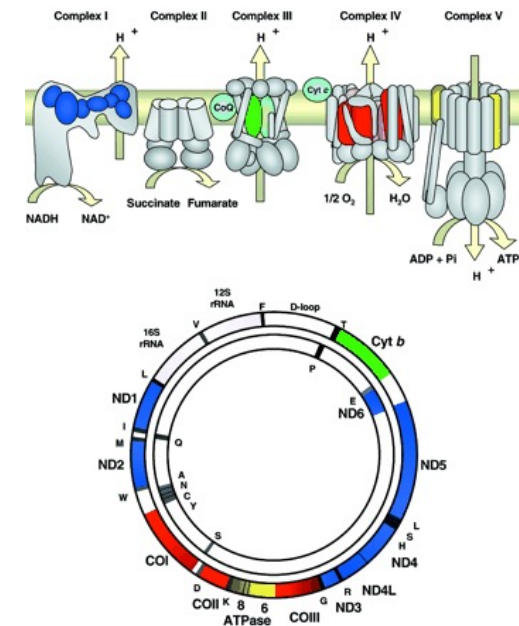
- Повторить б/х анализ на свежем биоматериале (исключить недостоверные данные первого измерения, перепутанный б/м)
- Изучить литературу – встречаются «низкие экскреторы»
- Выявленные варианты – случайные находки

# Анализ митохондриальной ДНК



[www.mitomap.org](http://www.mitomap.org)

- Лучше секвенировать мтДНК отдельно либо с геномом
- Проверять «точки» в специализированных источниках информации – много полиморфизмов
- Анализировать патогенность неописанных вариантов в спец. базах



БИОХИМИЧЕСКИЙ

МАРКЕР -

ДОБРО ИЛИ ЗЛО?



# Метилмалоновая ацидурия?

“Незначительное” повышение (25-250)

метилмалоновой кислоты в моче пациента  
(норма 0-2 мМ/М креатинина)



Диф. диагностика: неклассическая ММА,  
митохондриальная патология



2 компаунд-гетерозиготные мутации в гене *MUT*

5 лет



# Синдром Ли?

Некроз базальных ганглиев на МРТ, ЧАЭН, ЗПРР



Органические кислоты мочи в норме (в т.ч. N-ацетиласпартат)



Митохондриальная панель, мтДНК - норма



Прислали снимки МРТ

Болезнь Канавана, частая мутация в гене ASPA

2 года



# Путь к успешной диагностике

- Полное представление о клинической картине пациента.
- Качественная биохимическая и генетическая диагностика
- Тщательный анализ литературы
- NGS-анализ может и не выявить причину заболевания
- **Смелые идеи** (не один диагноз, «левый» биоматериал и т.п.)

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ



Спасибо за внимание

