

Алгоритм анализа и интерпретации генетических вариантов при наследственных болезнях обмена веществ



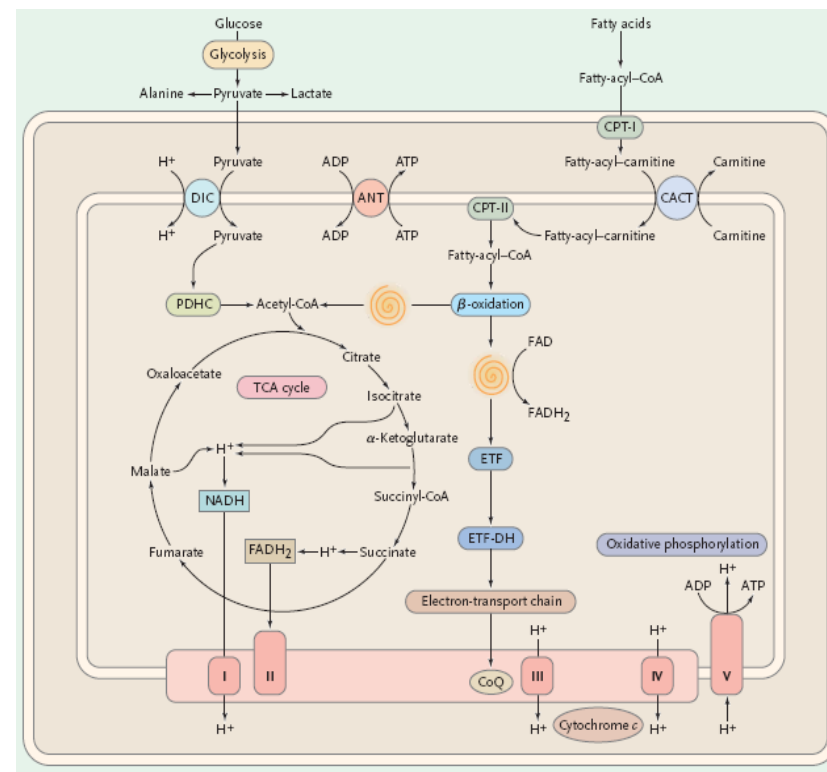
Юлия Иткис, лаборатория НБОВ, ФГБНУ “МГНЦ”

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 ?

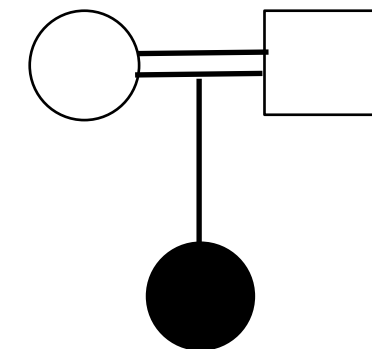
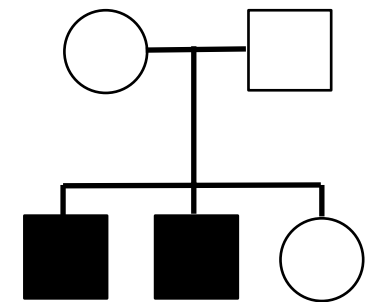


Анализ данных NGS при ИБО

- Аннотация данных в **wANNOVAR**
- 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

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 (AP насл-е)
с хорошей глубиной покрытия



Клиническая картина соответствует «описанию гена»

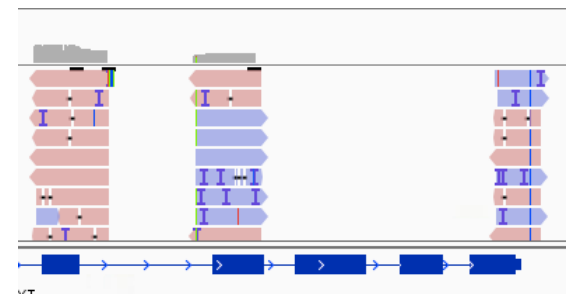
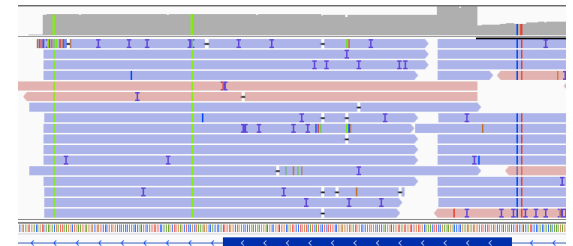


Подтверждено наследование аллелей от родителей

Что делать в других случаях?

Найден только 1 «подходящий» вариант при AR 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**

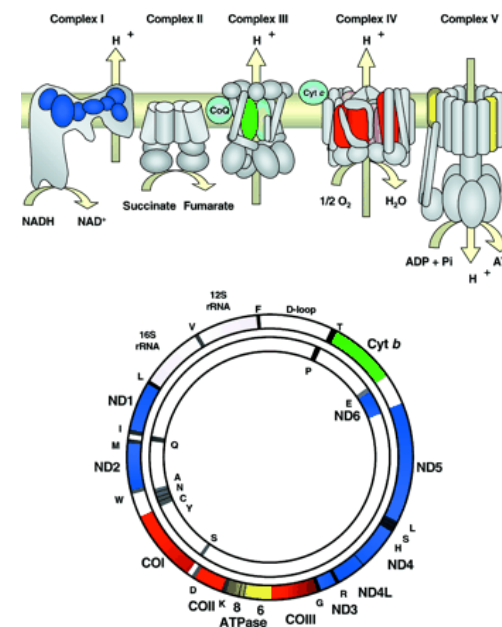
- Повторить б/х анализ на свежем биоматериале
(исключить недостоверные данные первого измерения,
перепутанный б/м)
- Изучить литературу – встречаются «низкие экскреторы»
- Выявленные варианты – случайные находки

Анализ митохондриальной ДНК



www.mitomap.org

- Лучше секвенировать мтДНК отдельно
- 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

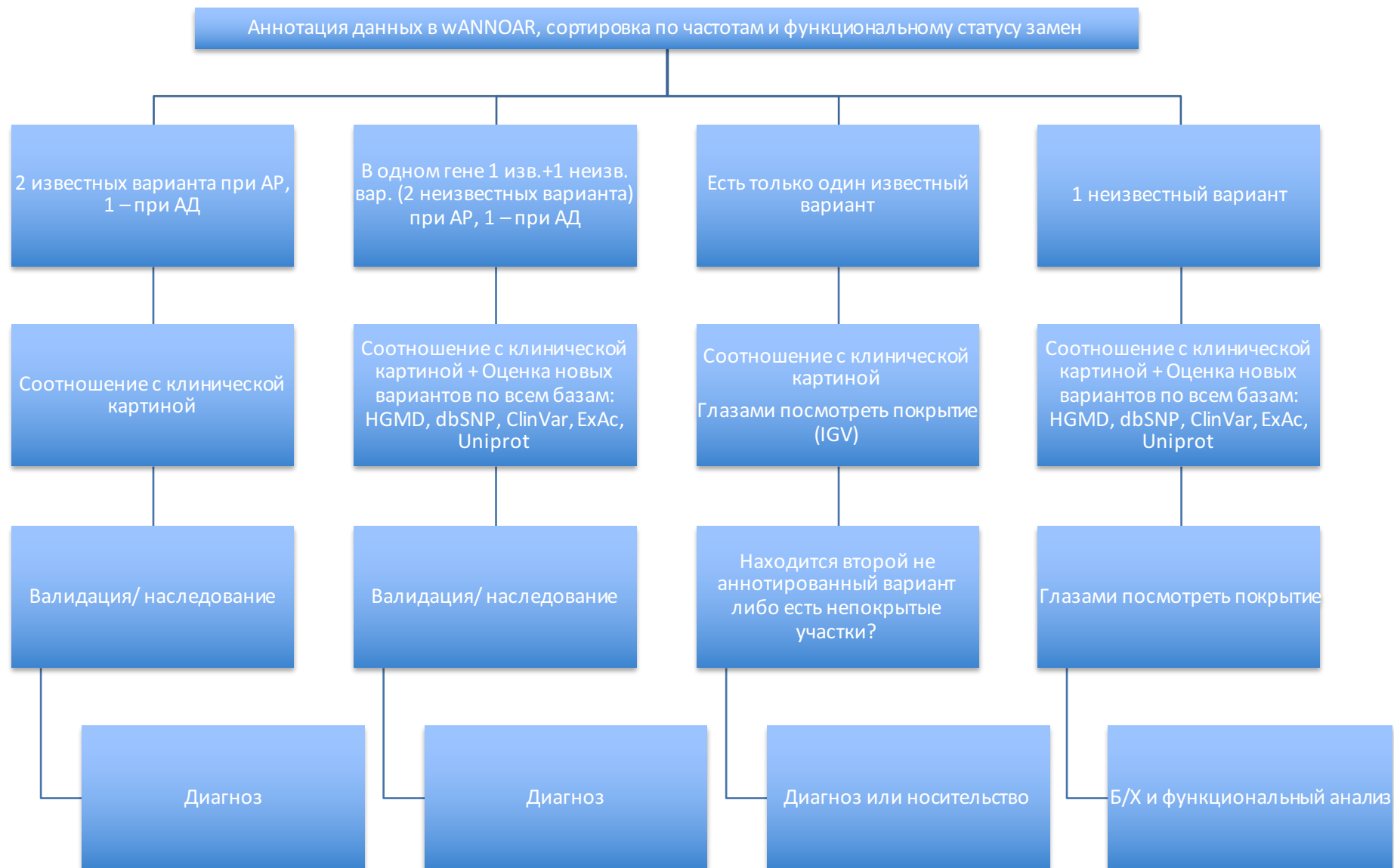
- **Полное представление** о клинической картине пациента
- **Качественная** биохимическая и генетическая диагностика
- Тщательный **анализ литературы**
- NGS-анализ **может и не выявить** причину заболевания

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ



Спасибо за внимание





Нельзя забывать о выявлении нового фенотипа