

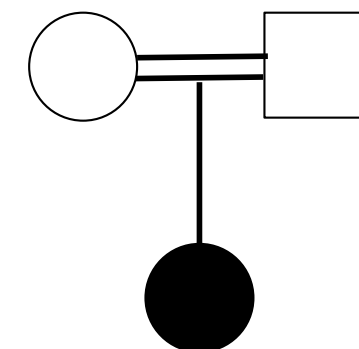
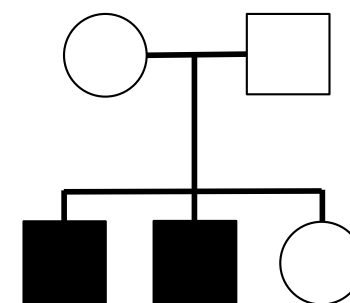
Практическая часть анализа и интерпретации генетических вариантов при наследственных болезнях обмена веществ



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

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



Случай I

Пациентка Р., 1 г.

Идиопатическая эпилепсия с миоклоническими приступами. Атаксия в положении сидя и при ползании. В период новорожденности патологическая гипербилирубинемия.

Д-з: синдром Альперса

Случай I – ответ

Пациентка Р., I г.

1. POLG:NM_002693:exon13:c.G2243C:p.W748S гетеро

2. POLG:NM_002693:exon17:c.C2639A:p.A880D гетеро

Оба варианта описаны, в транс-положении, фенотип соответствует

Совместный разбор I

Пациент Р., 1 г.

На 2 с.ж. желтуха. На 3 с.ж. угнетение ЦНС.

Лактатемия, гипербилирубинемия, гипераланинемия, метаболический ацидоз. На 4 с.ж. неонатальные судороги, эпилептический статус по ЭЭГ.

Высокий уровень мочевины.

В 1 год ребенок выглядит совершенно здоровым.

Совместный разбор I – ответ?

Пациент Р., 1 г.

Пиридоксинзависимые судороги ???

1. ALDH7A1:NM_001182:exon15:c.G1406A:p.R469H (от матери)
2. ALDH7A1:NM_001202404:exon1:c.T2G:p.M1R (от отца) по другому транскрипту

Повышен уровень пипеколиновой кислоты

Но! Не укладывается в фенотип

VUS

Совместный разбор I – верный ответ

Пациент Р., 1 г.

Недостаточность карбоангидразы VA

CA5A:NM_001739:exon4:c.G555A:p.K185K

Синонимичный вариант!

В базе HGMD данная замена не описана. Но есть в публикациях, проведен функциональный анализ. В здоровой популяции замена встречается с низкой частотой (<0,1%).

REPORT

Mitochondrial Carbonic Anhydrase VA Deficiency Resulting from CA5A Alterations Presents with Hyperammonemia in Early Childhood

Clara D. van Karnebeek,^{1,2,3,4,*} William S. Sly,⁹ Colin J. Ross,^{2,3,4} Ramona Salvarinova,^{1,2,3} Joy Yaplito-Lee,¹⁰ Saikat Santra,¹¹ Casper Shyr,^{3,4,5} Gabriella A. Horvath,^{1,2,3} Patrice Eydoux,^{3,5,8} Anna M. Lehman,^{3,5} Virginie Bernard,^{3,4,5} Theresa Newlove,^{3,6} Henry Ukpeh,² Anupam Chakrapani,¹¹ Mary Anne Preece,¹² Sarah Ball,¹² James Pitt,^{10,13} Hilary D. Vallance,^{3,7,8} Marion Coulter-Mackie,^{2,3} Hien Nguyen,⁹ Lin-Hua Zhang,^{2,3,4} Amit P. Bhavsar,^{3,4,5} Graham Sinclair,^{3,7,8} Abdul Waheed,⁹ Wyeth W. Wasserman,^{3,4,5} and Sylvia Stockler-Ipsiroglu^{1,2,3}

Four children in three unrelated families (one consanguineous) presented with lethargy, hyperlactatemia, and hyperammonemia of unexplained origin during the neonatal period and early childhood. We identified and validated three different CA5A alterations, including a homozygous missense mutation (c.697T>C) in two siblings, a homozygous splice site mutation (c.555G>A) leading to skipping of exon 4, and a homozygous 4 kb deletion of exon 6. The deleterious nature of the homozygous mutation c.697T>C (p.Ser233Pro) was demonstrated by reduced enzymatic activity and increased temperature sensitivity. Carbonic anhydrase VA (CA-VA) was absent in liver in the child with the homozygous exon 6 deletion. The metabolite profiles in the affected individuals fit CA-VA deficiency, showing evidence of impaired provision of bicarbonate to the four enzymes that participate in key pathways in intermediary metabolism: carbamoylphosphate synthetase 1 (urea cycle), pyruvate carboxylase (anaplerosis, gluconeogenesis), propionyl-CoA carboxylase, and 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase (branched chain amino acids catabolism). In the three children who were administered carglumic acid, hyperammonemia resolved. CA-VA deficiency should therefore be added to urea cycle defects, organic acidurias, and pyruvate carboxylase deficiency as a treatable condition in the differential diagnosis of hyperammonemia in the neonate and young child.

Совместный разбор 2

Пациент Г.

По результатам анализа ТМС в пятнах крови выявлено резкое повышение лейцина, изолейцина, валина – предположен **лейциноз** (болезнь кленового сиропа, гены генах *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT*), что согласуется с клинической картиной.

Совместный разбор 2 - ответ

Пациент Г.

Лейциноз. Делеция 7-9 экзонов в гене *BCKDHA* в гомозиготном состоянии. В генах *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT* нет явных отклонений, однако нужно обратить внимание, что в гене *BCKDHA* не покрыты 7-9 экзоны, а в других образцах хорошее покрытие этих участков – можно предположить крупную делецию в гене, причем они описаны в литературе.

 Пример везения исследователя

Делеция 7-9 экзонов в гомозиготе подтверждена методом ПЦР с фланкирующими праймерами.

Случай 2

Пациентка К., 12 л.

Направлена на «митохондриальную» панель.

Корково-подкорковый энцефалит неуточненной этиологии, тяжелая форма. Симптоматическая эпилепсия, парциальные припадки с вторичной генерализацией. Левосторонний гемипарез. Яркая манифестация в 11 лет.

Случай 2 - ответ

Пациентка К., 12 л.

POLG:NM_002693:exon21:c.T3294A:p.N1098K – гетеро, не описан.
Но описан другой вариант с.T3294G (p.N>K) с доминантным наследованием.

- ⚡ У детей с такой клин. картиной АР-наследование в гене *POLG*.
Спорадический случай – у родителей вариант не выявлен.
- ⚡ Вариант **AARS2**:c.2607delG:p.K869fs – ошибка секвенирования.

Случай 3

Пациент П., 9 мес.

Направлен на «метаболическую» панель.

Д-з: дегенеративное заболевание нервной системы, тетрапарез. Симптоматическая эпилепсия. ЗПМР.

Манифестация в 4.5 мес.

3.1 – пробанд

3.2 – его отец

Случай 3 - ответ

Пациент П., 9 мес.

KCNQ2:NM_172107:exon3:c.A400T:p.I134F –

гетеро, не описана. Однако частота по gnomAD 0, патогенная по предикторам.

Д-з: EIEE7

⚡ Пример АД-наследования. У здорового (?) отца выявлен мозаицизм по мутации в гене *KCNQ2* (12%).

Случай 4

Пациент С., 8 мес.

От близкородственного брака

Направлен на «метаболическую» панель с д-зом синдромом Цельвегера. По результатам б/х анализа подтверждена **пероксисомная патология.**

Случай 4 - ответ

Пациент С., 8 мес.,

PEXI: chr7 g.92148403 T>C (IVS2-11 T>C) –

Гомозиготный вариант в интроне, не описан. Однако частота по gnomAD 0, патогенная по Human Splicing Finder –

Alteration of the WT acceptor site, most probably affecting splicing.

⚡ Пример АР-наследования в близкородственном браке. Родители – гетерозиготные носители.

Случай 5

Пациентка З., 1.5 г.

Направлена для расширенного анализа митохондриальных генов.

Д-з: Дегенеративное заболевание ЦНС. Подострая некротическая энцефалопатия. Спастический тетрапарез, гиперкинетический синдром.

На МРТ симметричные изменения в ядрах бледного шара, не выявлено б/х отклонений (органические к-ты мочи, аминокислоты и ацилкарнитины в крови).

Синдром Ли?

Случай 5 - ответ

Пациентка 3., 1.5 г.

GCDH:NM_000159:exon12:c.G1261A:p.A421T/

GCDH:NM_000159:exon11:c.C1204T:p.R402W

Оба варианта описаны в HGMD. Глутаровая ацидурия.

⚡ Пример пациента из редкой группы низких экскреторов. Б/х данные не согласуются с молекулярными, однако по клинике подходит.

Случай 5 - ответ

HUMAN MUTATION 12:141-144 (1998)

MUTATION UPDATE

Glutaryl-CoA Dehydrogenase Mutations in Glutaric Acidemia (Type I): Review and Report of Thirty Novel Mutations

Stephen I. Goodman,^{1*} Donna E. Stein,¹ Sudha Schlesinger,¹ Ernst Christensen,² Marianne Schwartz,² Cheryl R. Greenberg,³ and Orly N. Elpeleg⁴

¹Department of Pediatrics, University of Colorado Health Sciences Center, Denver, Colorado 80262; Fax: (303)-315-8080

²Department of Clinical Genetics, Rigshospitalet, 2100 Copenhagen, Denmark

³Departments of Human Genetics and Pediatrics and Child Health, University of Manitoba, Winnipeg R3E 0W2, Canada

⁴Metabolic Disease Unit, Shaare-Zedek Medical Center, Jerusalem 91031, Israel

Communicated by R.G.H. Cotton

Glutaric acidemia type I (GA1) is caused by mutations in glutaryl-CoA dehydrogenase (GCD). Sixty-three pathogenic mutations have been reported, 30 of them for the first time, together with data on their relationship to the clinical and biochemical phenotype. In brief, mutations are common. There is little if any relationship between genotype and phenotype, even when heterozygous, seem especially common in patients with elevated urine glutaric acid. Hum Mutat 12:141-144, 1998

The presence and/or severity of organic aciduria does, however, correlate with specific mutations. The association of the R227P allele with no, or very low, free glutaric acid excretion has been documented (Christensen et al., 1997), and there may be a similar association with A293T, G178R, and R88C. The

Пример пациента из редкой группы низких экскреторов (б/х данные не согласуются с молекулярными)

Случай 6

Пациентка К.

По результатам б/х анализа повышена оротовая кислота — предположена **орнитин-транскарбамилазная недостаточность** (ген *OTC*), что согласуется с клинической картиной.


Случай 6 - ответ

Пациентка К.


ОТС deficiency

В гене *ОТС* нет явных отклонений, однако нужно обратить внимание, что нет полиморфизмов в гетерозиготном состоянии – можно заподозрить крупную делецию в гене, причем они описаны в литературе.

Делеция всего гена подтверждена методом MLPA-анализа.

 Пример X-
сцепленного
заболевания у девочки

Heterozygous Females

[Rowe et al. \(1986\)](#) reviewed 13 symptomatic female heterozygotes. They presented as early as the first week of life or as late as the sixth year. Symptoms before diagnosis were nonspecific: episodic extreme irritability (100%), episodic vomiting and lethargy (100%), protein avoidance (92%), ataxia (77%), stage II coma (46%), delayed growth (38%), developmental delay (38%), and seizures (23%). Onset at the time of weaning from breast milk was frequent. Including the proband, 42% of females in the 13 families had symptoms. 

Случай 7

Пациент С., 1 мес.

Ухудшение состояния на 3 с.ж.

Энцефалопатия

Повышен уровень аммиака, лактата, аланина

Респираторный алкалоз

Д-з: нарушение цикла мочевины?

Случай 7 - ответ

Пациент С., 1 мес.

Недостаточность карбоангидразы VA

CA5A:NM_001739:exon4:c.G555A:p.K185K в гомозиготе

Синонимичный вариант!

Соответствует фенотипу.

Предположительно, это частый вариант в нашей популяции, так как частота встречаемости значительно выше, чем в gnomAD.

Путь к успешной диагностике

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

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ



Спасибо за внимание



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