



Использование NGS в клинической практике.



Опыт врача-генетика

Е.А. Николаева

Д.м.н., рук. отдела клинической генетики

ОСП «Научно-исследовательский клинический институт
педиатрии имени Ю.Е.Вельтищева»

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава
России, Москва

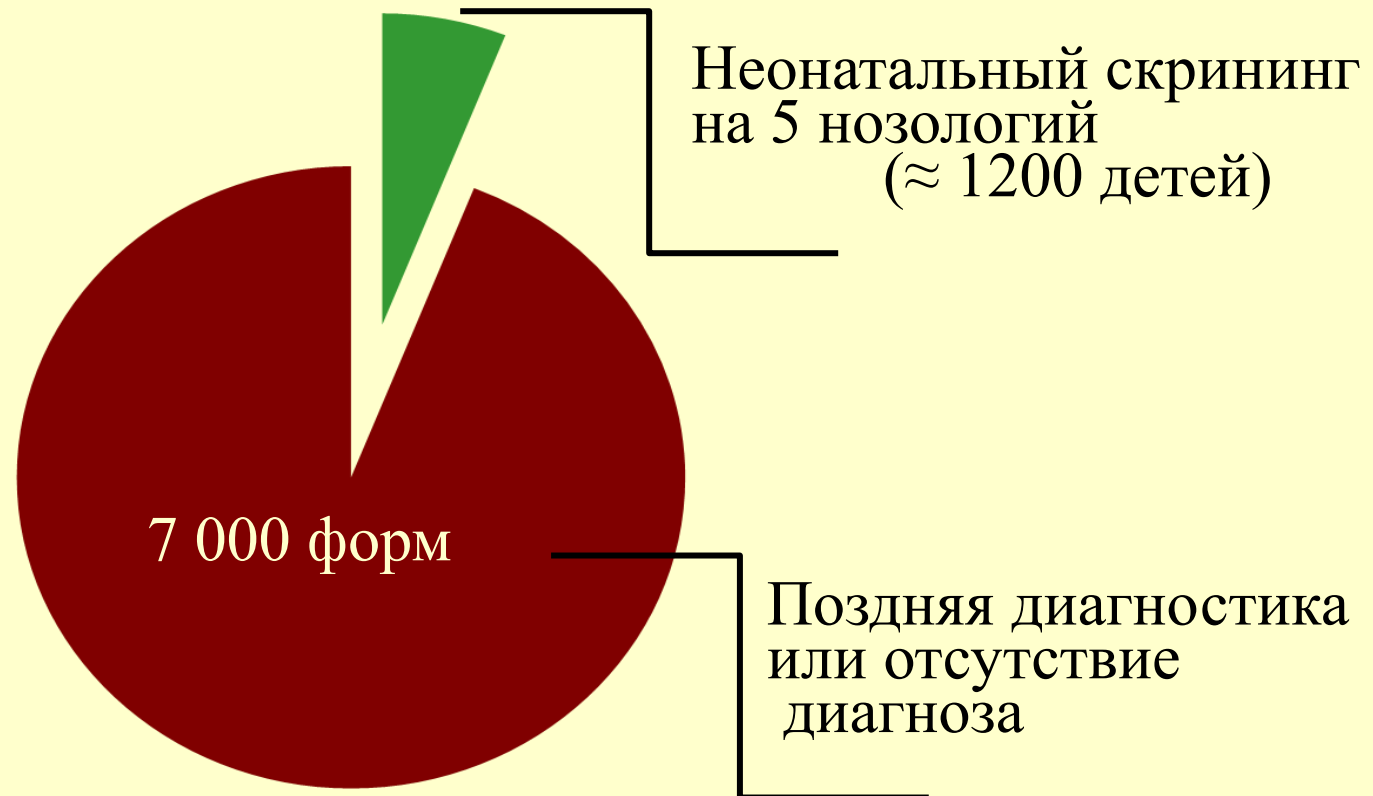
Москва

21 октября 2021 г.

Диагностика моногенных заболеваний (около 7 000 форм).



Ежегодно в России рождается $\approx 20\ 000$ детей с наследственными заболеваниями, у 1200 детей диагноз устанавливается благодаря неонатальному скринингу

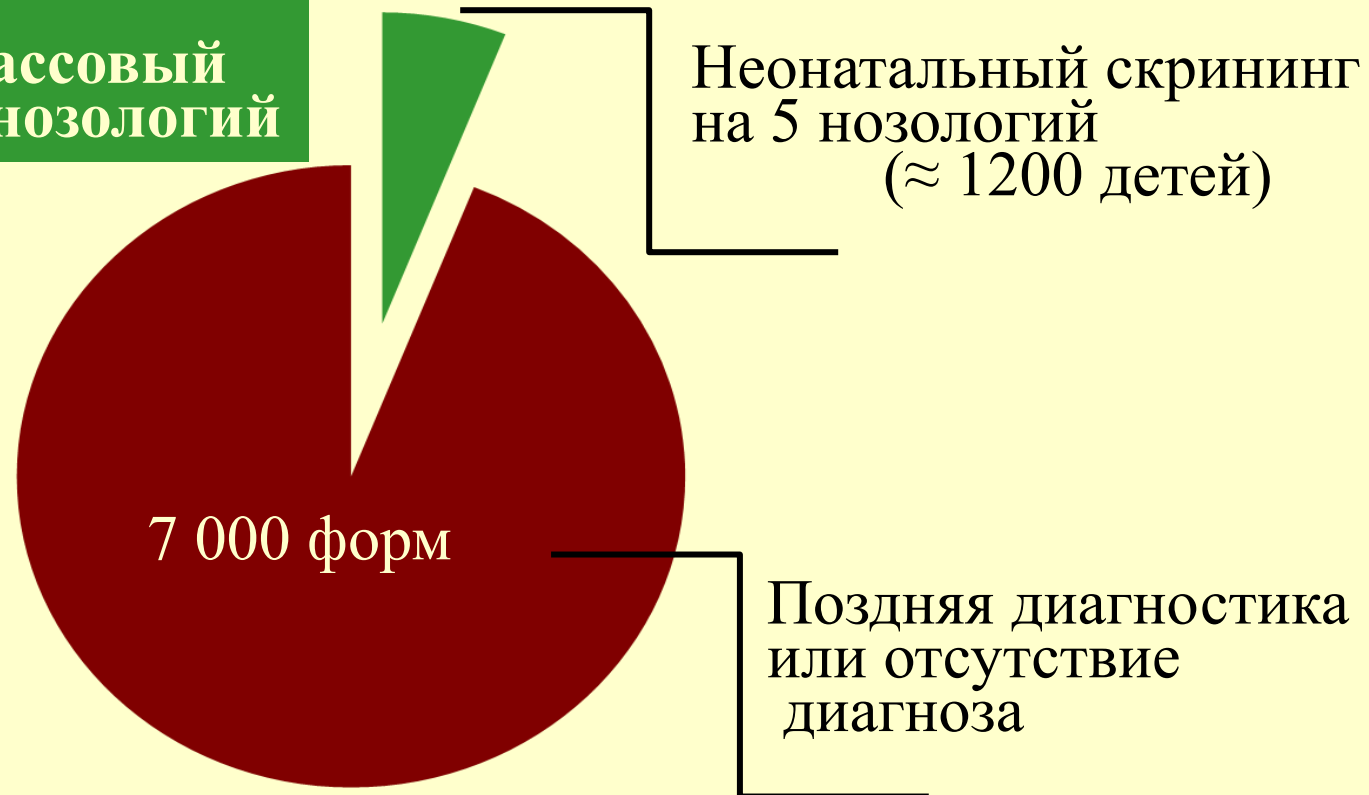


Диагностика моногенных заболеваний (около 7 000 форм).



Ежегодно в России рождается $\approx 20\ 000$ детей с наследственными заболеваниями, у 1200 детей диагноз устанавливается благодаря неонатальному скринингу

В ближайшей перспективе - массовый скрининг на 36 нозологий



Отдел клинической генетики НИКИ педиатрии им. Ю.Е.Вельтищева



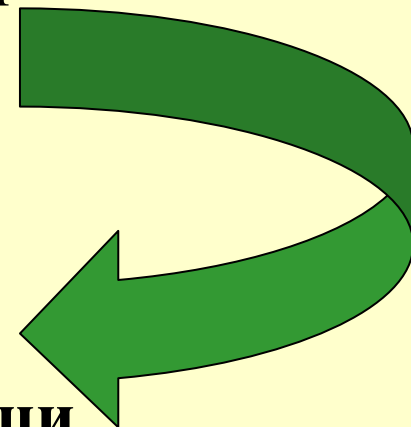
- Организован в 1970 г. по инициативе Ю.Е.Вельтищева
- В составе клинического отделения – 50 коек
- Не менее 80% детей поступает из регионов РФ
- Значительная часть детей впервые поступает с направляющим диагнозом: задержка психоречевого/моторного развития, дисплазия соединительной ткани, генетический синдром

отсутствие правильного диагноза

необоснованное обследование

неэффективное лечение

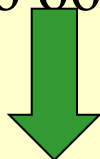
отсутствие медико-генетической помощи



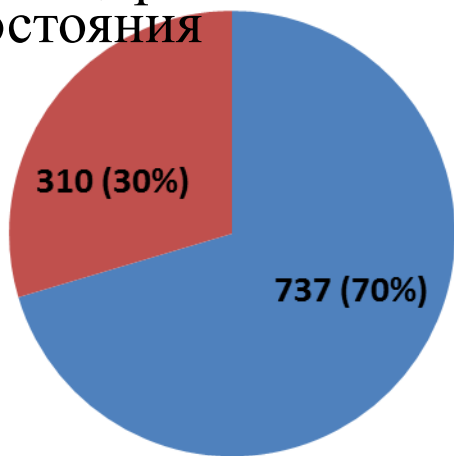
Ежегодно в отделении клинической генетики обследуются >1000 детей



Разделение на группы после клинического обследования:

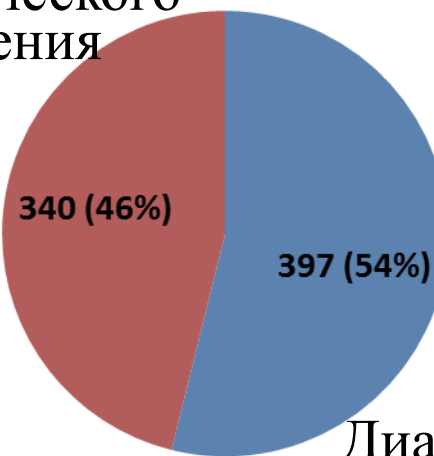


Недифференцированные состояния



Наследственные заболевания

Нет генетического подтверждения диагноза



Диагноз генетически подтвержден

Общая группа больных, n=1047

Дети с наследственными заболеваниями, n=737

Ежегодно в отделении клинической генетики обследуются >1000 детей

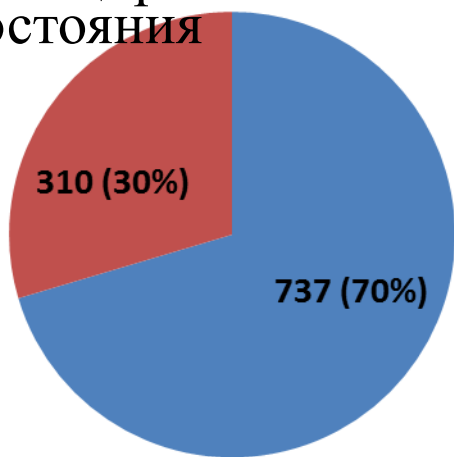


Разделение на группы после
клинического обследования



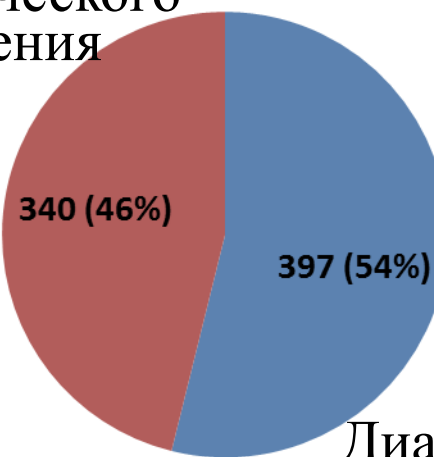
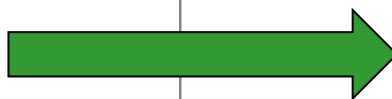
В 18% случаях результаты генетического анализа не объясняют фенотип

Недифференцированные состояния



Наследственные
заболевания

Нет генетического
подтверждения
диагноза



Диагноз
генетически
подтвержден

Общая группа больных,
n=1047

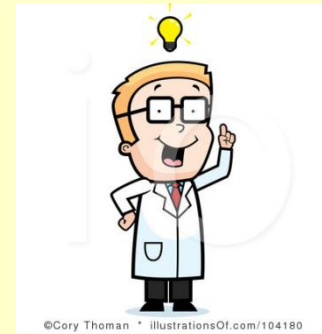
Дети с наследственными
заболеваниями, n=737

Почему важна генетическая диагностика наследственных заболеваний?



- **Верификация диагноза и обоснование патогенетического лечения**
- **Установление конкретного генетического варианта заболевания:**
 - **Прогнозирование тяжести и течения болезни**
 - **Определение особенности медицинского наблюдения**
 - **Определение варианта таргетного лечения**
- **Медико-генетическое консультирование членов семьи**
- **Пренатальная/преимплантационная молекулярно-генетическая диагностика**

Диагностика наследственных заболеваний



- **Анализ генеалогических данных**
- **Изучение анамнеза**
- **Клиническое обследование**
- **Лабораторное обследование с использованием рутинных и современных биохимических тестов:**
 - **тандемная масс-спектрометрия ацилкарнитинов, хроматография органических кислот, исследование лизосомных ферментов и др.**
- **Обследование с применением генетических технологий:**
 - **анализ кариотип, FISH-диагностика, молекулярно-цитогенетическое исследование - array CGH**
 - **молекулярно-генетическое исследование - ПЦР, MLPA, экзомное секвенирование, геномное секвенирование**

Трудности диагностики наследственных заболеваний



- **Большое количество нозологических форм**
- **Редкость отдельных заболеваний**
- **Недостаточная специфичность проявлений, сходство симптомокомплексов**
- **Отсутствие четких лабораторных маркеров**
- **Генетическая гетерогенность, мультиаллельность**
- **Быстрое прогрессирующее ухудшение состояния детей при ряде форм**
- **Низкая осведомленность практических врачей о клинических признаках, принципах диагностики и терапии, недооценка генеалогических данных**

Трудности диагностики наследственных заболеваний



NGS

Большое количество нозологических форм

Редкость отдельных заболеваний

Недостаточная специфичность проявлений, сходство симптомокомплексов

Отсутствие четких лабораторных маркеров

Генетическая гетерогенность, мультиаллельность

- **Быстрое прогрессирующее ухудшение состояния детей при ряде форм**
- **Низкая осведомленность практических врачей о клинических признаках, принципах диагностики и терапии, недооценка генеалогических данных**

Высокопроизводительное секвенирование (или секвенирование нового поколения, NGS) - эффективный метод молекулярно- генетической диагностики



- **Преимущества метода:**
 - Возможность анализа нуклеотидной последовательности большого количества генов
- **Варианты метода:**
 - Полное секвенирование генома (+ анализ мтДНК)
 - Полное секвенирование экзома
 - Секвенирование клинического экзома
 - Генная панель (напр., «эпилепсия», «болезни соединительной ткани» и др.)
- **Ограничения метода:**
 - невозможность детекции делеций $>10-50$ пар нуклеотидов и тринуклеотидных повторов
 - недостаточное покрытие гена
 - ненадежное выявление мутаций в интронных областях

Высокопроизводительное секвенирование (или секвенирование нового поколения, NGS) - эффективный метод молекулярно- генетической диагностики



- **Основное показание для назначения NGS диагностики:**
 - Гетерогенные патологические состояния, когда нет возможности четко идентифицировать нозологическую форму другими клиничко-лабораторными методами (напр., нейрорадиологическими, биохимическими) и направить на таргетное исследование определенного гена методом ПЦР.
 - Однако, если известен ген, мутации которого превалируют при данной гетерогенной патологии, целесообразно с него начинать таргетное исследование (напр., *SURF1* при синдроме Leigh, мутация 3243A>G *MTTL1* при синдроме MELAS)
- **Дополнительные показания:**
 - Технические/финансовые сложности исследования гена
 - Неясная клиническая картина

Высокопроизводительное секвенирование (или секвенирование нового поколения, NGS) - эффективный метод молекулярно- генетической диагностики



- **Основное показание для назначения NGS диагностики:**
 - Гетерогенные патологические состояния, когда нет возможности четко идентифицировать нозологическую форму другими клиничко-лабораторными методами (напр., нейрорадиологическими, биохимическими) и направить на таргетное исследование определенного гена методом ПЦР.
 - Однако, если известен ген, мутации которого превалируют при данной гетерогенной патологии, целесообразно с него начинать таргетное исследование (напр., *SURF1* при синдроме Leigh, мутация 3243A>G *MTTL1* при синдроме MELAS)
- **Другие показания:**
 - Технические/финансовые сложности исследования гена
 - **Неясная клиническая картина – создает дополнительные трудности для биоинформатического анализа**

Использование NGS-секвенирования для установления конкретной нозологической формы из группы фенотипически сходных состояний



- **Нарушения нервно-психического развития, микроаномалии, генетические синдромы**
- **Нейродегенеративные заболевания, митохондриальные заболевания**
- **Наследственные болезни соединительной ткани, недифференцированная соединительно-тканная дисплазия**
- **Состояния с приступами вялости, слабости, рвоты – органические ацидемии, нарушения β -окисления жирных кислот, циклическая ацетонемическая рвота**
- **Болезни почек, рахитоподобные заболевания/ тубулопатии**

Нарушения нервно-психического развития, микроаномалии



- Мальчик К., 15 лет.
- В анамнезе матери – замершая беременность
- Масса при рождении 2950 г, длина 50 см. С рождения отмечено нарушение развития, ходит с 1,5 лет, фразовая речь – с 5 лет. Синдром Сильвера-Рассела?
- Низкорослость (<3 цент), МАР: низкий рост волос на лбу, диспластичные уши с насечками на мочке, длинная спинка носа с удлиненной columella, недоразвитие крыльев носа, короткий фильтрум, неправильный рост зубов, тонкие губы, выраженная клинодактилия мизинцев, брахидактилия (особенно 3 и 4 пальцев стоп), расширение больших пальцев кистей и стоп.
- Заключение: Синдром Флотинг-Харбор (ген *SRCAP*)?
- В плане дифф.диагноза – с-мы Рубинштейна-Тейби 1 и 2, Халермана-Штрайфа



Нарушения нервно-психического развития, микроаномалии

- Мальчик К., 15 лет.
- В анамнезе матери – замершая беременность
- Масса при рождении 2950 г, длина 50 см. С рождения отмечено нарушение развития, ходит с 1,5 лет, фразовая речь – с 5 лет. Синдром Сильвера-Рассела?
- Низкорослость (<3 цент), МАР: низкий рост волос на лбу, диспластичные уши с насечками на мочке, длинная спинка носа с удлиненной columella, недоразвитие крыльев носа, короткий фильтрум, неправильный рост зубов, тонкие губы, выраженная клинодактилия мизинцев, брахидактилия (особенно 3 и 4 пальцев стоп), расширение больших пальцев кистей и стоп.
- Заключение: Синдром Флотинг-Харбор (ген *SRCAP*)?
- В плане дифф.диагноза – с-мы Рубинштейна-Тейби 1 и 2, Халермана-Штрайфа

NGS – патогенная мутация гена *SRCAP* в гетерозиготном состоянии, имеется в базе данных

Нарушения нервно-психического развития, микроаномалии

- Девочка Г., 4 лет. Случай спорадический.
- Жалобы: нарушение нервно-психического развития и поведения.
- Масса при рождении 2600 г, длина 54 см. Развивалась с задержкой, быстрый прирост окружности головы с 4 мес., судорожный с-м с 1,5 лет.
- Рост – 75 перц., масса тела >97 перц. по росту, окружность головы >97 перц. МАР: выступающие лобные бугры, антимонголоидный разрез глаз, голубые склеры, высокое небо, крупные кисти и стопы.
- Заключение: Генетический синдром, сопровождающийся высокорослостью и нарушением нервно-психического развития. В плане дифф.диагноза – синдромы SOTOS 1 и 2, Weaver, Beckwith-Wiedemann syndrome, Bannayan-Ruvalcaba, Simpson-Golabi 1 и 2.



Нарушения нервно-психического развития, микроаномалии

- Девочка Г., 4 лет. Случай спорадический.
- Жалобы: нарушение нервно-психического развития и поведения.
- Масса при рождении 2600 г, длина 54 см. Развивалась с задержкой, быстрый прирост окружности головы с 4 мес., судорожный с-м с 1,5 лет.
- Рост – 75 перц., масса тела >97 перц. по росту, окружность головы >97 перц. МАР: выступающие лобные бугры, антимонголоидный разрез глаз, голубые склеры, высокое небо, крупные кисти и стопы.
- Заключение: Генетический синдром, сопровождающийся высокорослостью и нарушением нервно-психического развития. В плане дифф.диагноза – синдромы SOTOS 1 и 2, Weaver, Beckwith-Wiedemann syndrome, Bannayan-Ruvalcaba, Simpson-Golabi 1 и 2.

NGS – вероятно патогенная мутация (несинонимичная замена) гена *NSD1* (синдром SOTOS 1)

Мутация отсутствует в базах данных. Рекомендован поиск мутации у родителей.





Нейродегенеративные и митохондриальные заболевания

- Мальчик А., 10 лет.
- В возрасте 7 лет появился 2-ст. птоз век, ограничение подвижности глазных яблок, утомляемость при физической нагрузке, с 8 лет – атаксия, низкорослость, дефицит массы. Диагноз: с-м Кернса-Сейра (неполная форма)?
- Делеция мтДНК в лимфоцитах крови и осадка мочи не обнаружена. Секвенирование мтДНК – мутации не выявлены.
- Нарастание атаксии, мышечной слабости, диспропорции физического развития (кахексия); полинейропатия, умеренная гиперлактатацидемия 2,7 мМ/л (норма до 1,7). Отсутствие нарушений сердечной проводимости. ЭЭГ и МРТ – без патологии. Заключение: Митохондриальная энцефаломиопатия (ядерного генеза?)



Нейродегенеративные и митохондриальные заболевания

- Мальчик А., 10 лет.
- В возрасте 7 лет появился 2-ст. птоз век, ограничение подвижности глазных яблок, утомляемость при физической нагрузке, с 8 лет – атаксия, низкорослость, дефицит массы. Диагноз: с-м Кернса-Сейра (неполная форма)?
- Делеция мтДНК в лимфоцитах крови и осадка мочи не обнаружена. Секвенирование мтДНК – мутации не выявлены.
- Нарастание атаксии, мышечной слабости, диспропорции физического развития (кахексия); полинейропатия, умеренная гиперлактатацидемия 2,7 мМ/л (норма до 1,7). Отсутствие нарушений сердечной проводимости. ЭЭГ и МРТ – без патологии. Заключение: Митохондриальная энцефаломиопатия (ядерного генеза?)

NGS - патогенная гомозиготная мутация p.L304R гена *POLG1*
(митохондриальная энцефаломиопатия, обусловленная дефицитом ДНК-полимеразы гамма: двусторонняя наружная офтальмоплегия, тяжелая миопатия с кахексией, атаксия, полинейропатия)



Нейродегенеративные и митохондриальные заболевания

- Девочка Ц., 11 лет.
- В возрасте 5 лет появилась мышечная слабость, непереносимость физической нагрузки, эпилептические приступы. В возрасте 11 лет: миопатический синдром, птоз, офтальмопарез, атаксия, тонико-клон. и миоклон. судороги, инсультоподобные состояния, гемипарез, лактатацидемия 4,4 мМ/л (норма до 1,7). МРТ – ишемический инсульт. Диагноз: синдром MELAS
- Мутация 3243 А>G мт гена *MTTL1* не обнаружена. Делеция мтДНК в лимфоцитах крови и осадка мочи не обнаружена. Секвенирование мтДНК – мутации не выявлены.
- Заключение: Митохондриальная энцефаломиопатия (ядерного генеза?)



Нейродегенеративные и митохондриальные заболевания

- Девочка Ц., 11 лет.
- В возрасте 5 лет появилась мышечная слабость, непереносимость физической нагрузки, эпилептические приступы. В возрасте 11 лет: миопатический синдром, птоз, офтальмопарез, атаксия, тонико-клон. и миоклон. судороги, инсультоподобные состояния, гемипарез, лактатацидемия 4,4 мМ/л (норма до 1,7). МРТ – ишемический инсульт. Диагноз: синдром MELAS
- Мутация 3243 A>G мт гена *MTTL1* не обнаружена. Делеция мтДНК в лимфоцитах крови и осадка мочи не обнаружена. Секвенирование мтДНК – мутации не выявлены.
- Заключение: Митохондриальная энцефаломиопатия (ядерного генеза?)

NGS - патогенная гомозиготная мутация p.L304R гена *POLG1*
(митохондриальная энцефаломиопатия, обусловленная дефицитом ДНК-полимеразы гамма: синдром Альперса, поздняя форма)



Нейродегенеративные и митохондриальные заболевания

- Мальчик К., 8 лет.
- С раннего возраста – умеренная задержка развития, после года появился 2-ст.птоз, косоглазие, на фоне ОРЗ – приступы вялости, слабости. С 5 лет ухудшение состояния, нарушение походки, тугоухость.
- В 8 лет: отстает в психоречевом развитии, резко выражены координаторные расстройства, не может стоять, ходить самостоятельно. МРТ – умеренное расширение боковых желудочков; гиперлактатацидемия 2,7 мМ/л (норма до 1,7), умеренный метаболический ацидоз. Высокая экскреция органических кислот.
- Заключение: Митохондриальная энцефаломиопатия. При обследовании в МГНЦ исключены мутации мтДНК, генов *SURF1* и *POLG*.



Нейродегенеративные и митохондриальные заболевания

- Мальчик К., 8 лет.
- С раннего возраста – умеренная задержка развития, после года появился 2-ст.птоз, косоглазие, на фоне ОРЗ – приступы вялости, слабости. С 5 лет ухудшение состояния, нарушение походки, тугоухость.
- В 8 лет: отстает в психоречевом развитии, резко выражены координаторные расстройства, не может стоять, ходить самостоятельно. МРТ – умеренное расширение боковых желудочков; гиперлактатацидемия 2,7 мМ/л (норма до 1,7), умеренный метаболический ацидоз. Высокая экскреция органических кислот.
- Заключение: Митохондриальная энцефаломиопатия. При обследовании в МГНЦ исключены мутации мтДНК, генов *SURF1* и *POLG*.

NGS - патогенная гемизиготная мутация гена *PDHA1*
(митохондриальная энцефаломиопатия, обусловленная дефицитом пируватдегидрогеназного комплекса)

Приступы вялости, слабости, рвоты



- Мальчик М., 5 лет. У дяди по материнской линии – гликогеноз(?)
- С раннего возраста - увеличенный живот, эпизоды слабости, рвоты и диареи. С 1,5 лет – задержка роста, увеличение размеров печени, гипогликемия, повышение трансаминаз АсАТ и АлАТ. Были исключены: целиакия, муковисцидоз, гепатиты В и С, болезнь Вильсона-Коновалова.
- В 5 лет: рост соответствует 10-25 перц., избыток массы тела, увеличение размеров живота, гепатомегалия (+5-6 см из-под реберной дуги), гипогликемия 2,5 – 2,8 ммоль/л (норма >3,2), повышены ЛПНП и трансаминазы; метаболический ацидоз.
- Заключение: Гликогеноз, печеночный тип (тип IXa?).
Рекомендуется исследование генов *GAA*, *G6PC*, *GBE1*, *SLC2A2*, *PNKA2*



Приступы вялости, слабости, рвоты

- Мальчик М., 5 лет. У дяди по материнской линии – гликогеноз(?)
- С раннего возраста - увеличенный живот, эпизоды слабости, рвоты и диареи. С 1,5 лет – задержка роста, увеличение размеров печени, гипогликемия, повышение трансаминаз АсАТ и АлАТ. Были исключены: целиакия, муковисцидоз, гепатиты В и С, болезнь Вильсона-Коновалова.
- В 5 лет: рост соответствует 10-25 перц., избыток массы тела, увеличение размеров живота, гепатомегалия (+5-6 см из-под реберной дуги), гипогликемия 2,5 – 2,8 ммоль/л (норма >3,2), повышены ЛПНП и трансаминазы; метаболический ацидоз.
- Заключение: Гликогеноз, печеночный тип (тип IXa?).
Рекомендуется исследование генов *GAA*, *G6PC*, *GBE1*, *SLC2A2*, *PHKA2*

NGS - патогенная гемизиготная мутация гена *PHKA2*

(гликогеновая болезнь, тип IXa; X-сцепленный рецессивный тип наследования)



Приступы вялости, слабости, рвоты

- Мальчик М., 5 лет. У дяди по материнской линии – гликогеноз(?)
- С раннего возраста - увеличенный живот, эпизоды слабости, рвоты и диареи. С 1,5 лет – задержка роста, увеличение размеров печени, гипогликемия, повышение трансаминаз АсАТ и АлАТ. Были исключены: целиакия, муковисцидоз, гепатиты В и С, болезнь Вильсона-Коновалова.
- В 5 лет: рост соответствует 10-25 перц., избыток массы тела, увеличение размеров живота, гепатомегалия (+5-6 см из-под реберной дуги), гипогликемия 2,5 – 2,8 ммоль/л (норма >3,2), повышены ЛПНП и трансаминазы; метаболический ацидоз.
- Заключение: Гликогеноз, печеночный тип (тип IXa?).
Рекомендуется исследование генов *GAA*, *G6PC*, *GBE1*, *SLC2A2*, *PNKA2*

NGS - патогенная гемизиготная мутация гена *PNKA2*

(гликогеновая болезнь, тип IXa; X-сцепленный рецессивный тип наследования)

Назначено диетическое лечение с целью предупреждения гипогликемии и ацидоза



Болезни почек, рахитоподобные заболевания/тубулопатии

- Мальчик М., 12 лет.
- Родословная: родственный брак, низкорослость и деформация ног у троюродного брата .
- С 1,5 лет вальгусная деформация ног, получал вит. D3 2000 Ед/сут. В 12 лет направлен в НИКИ педиатрии с диагнозом: Гипофосфатемический рахит.
- Задержка роста, вальгусная деформация ног, грудно-поясничный сколиоз I степени, нефрокальциноз , высокий уровень щел.фосфатазы и кальция, низкий уровень фосфора в крови, повышена экскреция кальция и фосфора.
- Заключение: Гипофосфатемический рахит. Рекомендуются исследование генов *PHEX*, *CLCN5*, *DMP1*, *ENPP1*, *KL*, *FGF23*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*.



Болезни почек, рахитоподобные заболевания/тубулопатии

- Мальчик М., 12 лет.
- Родословная: **родственный брак, низкорослость и деформация ног у троюродного брата.**
- С 1,5 лет вальгусная деформация ног, получал вит. D3 2000 Ед/сут. В 12 лет направлен в НИКИ педиатрии с диагнозом: Гипофосфатемический рахит.
- Задержка роста, вальгусная деформация ног, грудно-поясничный сколиоз I степени, нефрокальциноз, высокий уровень щел.фосфатазы и кальция, низкий уровень фосфора в крови, **повышена экскреция кальция** и фосфора.
- Заключение: Гипофосфатемический рахит. Рекомендуются исследование генов *PHEX*, *CLCN5*, *DMP1*, *ENPP1*, *KL*, *FGF23*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*.



Болезни почек, рахитоподобные заболевания/тубулопатии

- Мальчик М., 12 лет.
- Родословная: родственный брак, низкорослость и деформация ног у троюродного брата .
- С 1,5 лет вальгусная деформация ног, получал вит. D3 2000 Ед/сут. В 12 лет направлен в НИКИ педиатрии с диагнозом: Гипофосфатемический рахит.
- Задержка роста, вальгусная деформация ног, грудно-поясничный сколиоз I степени, нефрокальциноз , высокий уровень щел.фосфатазы и кальция, низкий уровень фосфора в крови, повышена экскреция кальция и фосфора.
- Заключение: Гипофосфатемический рахит. Рекомендуются исследование генов *PHEX*, *CLCN5*, *DMP1*, *ENPP1*, *KL*, *FGF23*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*.

NGS – вероятно патогенная гомозиготная мутация гена *SLC34A3* (гипофосфатемический рахит с гиперкальциурией)



Болезни почек, рахитоподобные заболевания, тубулопатии

- Мальчик М., 12 лет.
- Родословная: родственный брак, низкорослость и деформация ног у троюродного брата .
- С 1,5 лет вальгусная деформация ног, получал вит. D3 2000 Ед/сут. В 12 лет направлен в НИКИ педиатрии с диагнозом: Гипофосфатемический рахит.
- Задержка роста, вальгусная деформация ног, грудно-поясничный сколиоз I степени, нефрокальциноз , высокий уровень щел.фосфатазы и кальция, низкий уровень фосфора в крови, повышена экскреция кальция и фосфора.
- Заключение: Гипофосфатемический рахит. Рекомендуются исследование генов *PHEX*, *CLCN5*, *DMP1*, *ENPP1*, *KL*, *FGF23*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*.

NGS – вероятно патогенная гомозиготная мутация гена *SLC34A3* (гипофосфатемический рахит с гиперкальциурией)

Коррекция терапии: препараты фосфатов, отмена вит.Д



Заболевания соединительной ткани

- Мальчик Д., 15 лет.
- Родословная – случай спорадический.
- Развивался по возрасту. С 5 лет – осложненное течение периода реконвалесценции после травм: гемартроз правого коленного сустава, посттравматическая гематома мягких тканей левого бедра; 15 лет - разрыв правой подмышечной артерии после физической нагрузки, осложнения при хирургическом вмешательстве.
- Гиперподвижность крупных и мелких суставов, келоидные и папиросные рубцы, растяжимость кожи.
- Заключение: Синдром Элерса-Данло.

Рекомендуется исследование генов
COL1A1, COL1A2, COL3A1, COL5A1, COL5A2,
TNXB, FKBP14, SLC39A13, PRDM5, ZNF469,
PLOD1, CHST14, DSE, ADAMTS2, B3GALT6 и др.





Заболевания соединительной ткани

- Мальчик Д., 15 лет.
- Родословная – случай спорадический.
- Развивался по возрасту. С 5 лет – осложненное течение периода реконвалесценции после травм: гемартроз правого коленного сустава, посттравматическая гематома мягких тканей левого бедра; 15 лет - разрыв правой подмышечной артерии после физической нагрузки, осложнения при хирургическом вмешательстве.
- Гиперподвижность крупных и мелких суставов, келоидные и папиросные рубцы, растяжимость кожи.
- Заключение: Синдром Элерса-Данло.

Рекомендуется исследование генов *COL1A1*, *COL1A2*, *COL3A1*, *COL5A1*, *COL5A2*, *TNXB*, *FKBP14*, *SLC39A13*, *PRDM5*, *ZNF469*, *PLOD1*, *CHST14*, *DSE*, *ADAMTS2* , *B3GALT6* и др.





Заболевания соединительной ткани

- Мальчик Д., 15 лет.
- Родословная – случай спорадический.
- Развивался по возрасту. С 5 лет – осложненное течение периода реконвалесценции после травм: гемартроз правого коленного сустава, посттравматическая гематома мягких тканей левого бедра; 15 лет - разрыв правой подмышечной артерии после физической нагрузки, осложнения при хирургическом вмешательстве.
- Гиперподвижность крупных и мелких суставов, келоидные и папиросные рубцы, растяжимость кожи.
- Заключение: Синдром Элерса-Данло.

Рекомендуется исследование генов *COL1A1*, *COL1A2*, *COL3A1*, *COL5A1*, *COL5A2*, *TNXB*, *FKBP14*, *SLC39A13*, *PRDM5*, *ZNF469*, *PLOD1*, *CHST14*, *DSE*, *ADAMTS2*, *B3GALT6* и др.

NGS - патогенная мутация гена *COL3A1*
(синдром Элерса-Данло, сосудистый тип)



Диагностика генетически гетерогенных заболеваний: синдром Мейера-Горлина (8 типов)



- OMIM #224690; #613800; #613803; #613804; #613805; #616835; #617063; #617564

Триада симптомов: низкорослость, микрогения, аплазия/гипоплазия надколенника
Дополнительные признаки: микро/ретрогнатия, удлинение носа

1	<i>ORC1</i>	1p32.3
2	<i>ORC4</i>	2q23.1
3	<i>ORC6</i>	16q11.2
4	<i>CDT1</i>	16q24.3
5	<i>CDC6</i>	17q21.2
6	<i>GMNN*</i>	6p22.3
7	<i>CDC45L</i>	22q11.21
8	<i>MCM5</i>	22q12.3



* аутосомно-доминантное наследование



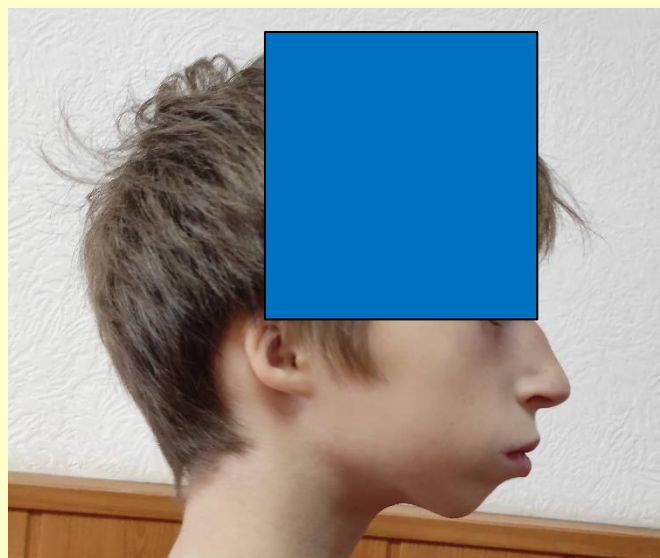
Диагностика генетически-гетерогенных заболеваний: синдром Мейера-Горлина (8 типов)

- OMIM #224690; #613800; #613803; #613804; #613805; #616835; #617063; #617564

1	<i>ORC1</i>	1p32.3
2	<i>ORC4</i>	2q23.1
3	<i>ORC6</i>	16q11.2
4	<i>CDT1</i>	16q24.3
5	<i>CDC6</i>	17q21.2
6	<i>GMNN*</i>	6p22.3
7	<i>CDC45L</i>	22q11.21
8	<i>MCM5</i>	22q12.3

* аутосомно-доминантное наследование

Триада симптомов: низкорослость, микроотия, аплазия/гипоплазия надколенника
Дополнительные признаки: микро/ретрогнатия, удлинение носа



Мутации гена *ORC1* в компаунд-гетерозиготном состоянии

Трудности с установлением диагноза: гетерозиготная мутация при АР заболевании



- Девочка Г. (1,5 г.) и мальчик Д. (2 г.)
- Диагноз ФКУ установлен на основании результатов скрининга. Несмотря на диетическое лечение у детей появились признаки задержки развития, мышечная дистония, гиперкинетические приступы.
- Исследование гена *PAH* – мутации не найдены.
- Заключение: биоптериндефицитная (кофакторная) фенилкетонурия. Рекомендуется исследование генов *PTS*, *QDPR*, *GCH1*, *PCBD1*, *SPR*.

Трудности с установлением диагноза: гетерозиготная мутация при АР заболевании



- Девочка Г. (1,5 г.) и мальчик Д. (2 г.)
- Диагноз ФКУ установлен на основании результатов скрининга. Несмотря на диетическое лечение у детей появились признаки задержки развития, мышечная дистония, гиперкинетические приступы.
- Исследование гена *PAH* – мутации не найдены.
- Заключение: биоптериндефицитная (кофакторная) фенилкетонурия. Рекомендуется исследование генов *PTS*, *QDPR*, *GCHI*, *PCBD1*, *SPR*.

NGS – вероятно патогенная мутация гена *QDPR* (ребенок Г.)

NGS - вероятно патогенная мутация гена *PTS* (ребенок Д.)

Найденные гетерозиготные мутации отсутствуют в базах данных.

Трудности с установлением диагноза: гетерозиготная мутация при АР заболевании



- Девочка Г. (1,5 г.) и мальчик Д. (2 г.)
- Диагноз ФКУ установлен на основании результатов скрининга. Несмотря на диетическое лечение у детей появились признаки задержки развития, мышечная дистония, гиперкинетические приступы.
- Исследование гена *PAH* – мутации не найдены.
- Заключение: биоптериндефицитная (кофакторная) фенилкетонурия. Рекомендуется исследование генов *PTS*, *QDPR*, *GCHI*, *PCBD1*, *SPR*.

NGS – вероятно патогенная мутация гена *QDPR* (ребенок Г.)

NGS - вероятно патогенная мутация гена *PTS* (ребенок Д.)

Найденные гетерозиготные мутации отсутствуют в базах данных.

Диагноз: биоптериндефицитная (кофакторная) фенилкетонурия

Коррекция лечения: диетотерапия + кофакторная и промедиаторная терапия

Диагностика аллельных заболеваний



- Ген *FLNA*, Xq28
 - Фронтонетафизарная дисплазия
 - Синдром Melnick-Needles
 - Отопалатодигитальный синдром 1
 - Отопалатодигитальный синдром 2
 - Терминальная костная дисплазия

Диагностика аллельных заболеваний



- Ген *FLNA*, Xq28
 - Фронтметафизарная дисплазия
 - Синдром Melnick-Needles
 - Отопалатодигитальный синдром 1
 - Отопалатодигитальный синдром 2
 - Терминальная костная дисплазия
- Ребенок А. поступил в клинику в возрасте 2 лет.
Предположительные диагнозы:



- Множественные аномалии развития; Синдром Пьера-Робена; Артрогрипоз; Множественный дизостоз; Синдром Ларсена
- Клиническое заключение: Задержка двигательного и психоречевого развития. Миопатический синдром. Воронкообразная деформация грудной клетки. Множественные врожденные аномалии верхних конечностей. Врожденный вывих лучевых костей с 2 сторон. Врожденные деформации костей нижних конечностей, стоп. Вывих головки левой бедренной кости. Двусторонняя тугоухость 3 степени. Расщелина неба

Диагностика аллельных заболеваний



- Ген *FLNA*, Xq28
 - Фронтметафизарная дисплазия
 - Синдром Melnick-Needles
 - Отопалатодигитальный синдром 1
 - Отопалатодигитальный синдром 2
 - Терминальная костная дисплазия
- Ребенок А. поступил в клинику в возрасте 2 лет.
Предположительные диагнозы:



- Множественные аномалии развития; Синдром Пьера-Робена; Артрогрипоз; Множественный дизостоз; Синдром Ларсена
- Клиническое заключение: Задержка двигательного и психоречевого развития. Миопатический синдром. Воронкообразная деформация грудной клетки. Множественные врожденные аномалии верхних конечностей. Врожденный вывих лучевых костей с 2 сторон. Врожденные деформации костей нижних конечностей, стоп. Вывих головки левой бедренной кости. Двусторонняя тугоухость 3 степени. Расщелина неба

Диагноз: Отопалатодигитальный синдром 2

Диагностика аллельных заболеваний - ген *FBN1* (синдром Марфана)



Фенотип	Номер по ОМIM
Акромикрическая дисплазия	102370
Семейная эктопия хрусталика	129600
Гелиофизическая дисплазия 2	614185
Синдром липодистрофии	616914
MASS синдром	604308
Синдром жесткой кожи (stiff skin syndrome)	184900
Вейла-Марчезани (Weill-Marchesani) синдром 2	608328

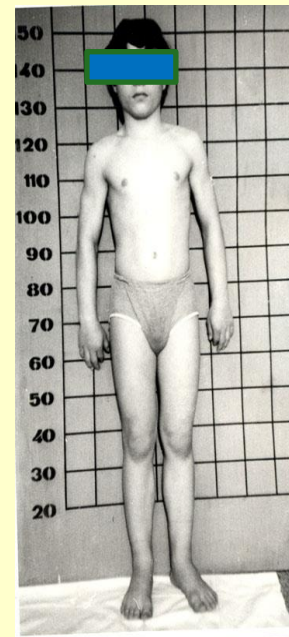
- Требуется проведение дифференциальной диагностики синдрома Марфана с семейной эктопией хрусталика, синдромом липодистрофии и синдромом MASS (аномалии скелета, ПМК, миопия)



Синдром
липодистрофии
(E.Passarge et al, 2016)



Синдромы Марфана
и Вейла-Марчезани

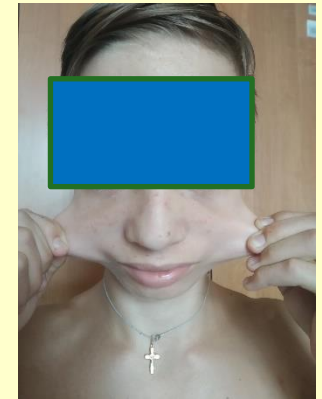


Из архива Отдела
клинической генетики
НИКИ педиатрии
им.Ю.Е.Вельтищева

Неэффективность генетической диагностики



- Мальчик с синдромом Элерса-Данло
- Дифференциальный диагноз между классическим и сосудистым типами синдрома (гены *COL5A1*, *COL5A2*, *COL3A1*, *COL1A1*)
- Гиперрастяжимость кожи, гипермобильность суставов. В возрасте 14 лет произошел спонтанный разрыв бедренной артерии



Нет результата

NGS исследование (панель, включающая гены, ответственные за болезни соединительной ткани)
Секвенирование полного экзона

- Планируется проведение секвенирования генома

Из архива Отдела клинической генетики НИКИ педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева

Заключение



- **Генетическая диагностика – необходимый метод обследования пациентов с наследственной патологией.**
- **Трудности интерпретации генетических данных –**
 - выявление новых, незарегистрированных ранее мутаций и доказательство их связи с клиническим фенотипом;
 - трактовка гетерозиготных мутаций при аутосомно-рецессивных заболеваниях;
 - наличие аллельных заболеваний, необходимость уточнения фенотипических данных
 - неэффективность генетической диагностики в ряде случаев

Благодарю за внимание



**Научно-исследовательский
клинический институт
педиатрии им.
Ю.Е.Вельтищева**

125412 Москва, Талдомская ул., д.2

+7(495) 483-03-12

enikolaeva@pedklin.ru



**XIII Всероссийская конференция по клинической генетике
«Современные технологии в решении актуальных проблем
диагностики и лечения гетерогенных форм наследственных
болезней у детей» 22 октября 2021 г. congress-pedklin.ru**

**XX Российский Конгресс «Инновационные технологии в педиатрии и
детской хирургии» 21-23 октября 2021 г.**

Гостиница «Космос»