ФГБУ НМИЦ им.В.А. Алмазова Минздрава Росиии, кафедра лабораторной медицины и генетики

СПбГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»

«Стратегия геномного тестирования в неонатальном скрининге наследственных болезней обмена:актуальность и возможности»

Чурюмова Юлия Александровна

Наследственные болезни обмена

Структура

≈700
нозологий

25% проявляется в период новорожденности

«….группа наследственных заболеваний, возникающих в результате врожденных дефектов специфических ферментов, приводящих к нарушениям определенных метаболических процессов..»*

**Stedman`s Medical Dictionary*

Преваленс

≤5:10 000

Относятся к редким заболеваниям

Суммарная частота

1:800
живых н/р

10% от всех моногенных болезней

Наследственные болезни и ВПР в структуре детской заболеваемости

- По данным ВОЗ, до 5% новорожденных имеют наследственные заболевания, которые обусловливают

  20-30% младенческой

  и 30% детской смертности.

- На фоне снижения младенческой смертности от состояний, возникающих в перинатальном периоде, смертность от врожденных аномалий остается на прежнем уровне.

- Лечение и реабилитация детей с НБ сопровождается серьезными экономическими затратами (236 млн.руб. – мед. обслуживание женщин, родивших больных детей, 2,5 млрд. – социальная помощь детям-инвалидам в год), а также психологическими и социальными проблемами для семьи.

Актуальность

- инвалидность
- летальный исход

Поздняя диагностика

Неспецифичность клинических проявлений

(ЗПМР, неврологические нарушения, диспепсические нарушения и т.д.)

Значительное фенотипическое разнообразие

Требуется назначение специфических лабораторных тестов

И.П. Павлов: «…Наши врачи должны, как азбуку, знать законы наследственности. Воплощение в жизнь научной истины о законах наследственности поможет избавить человечество от многих скорбей и горя.»

- Значительная часть пациентов с ВПР и НБ наблюдаются у врачей различных специальностей, при этом не всегда назначаются необходимые специальные методы обследования

Часто неточный либо неправильный диагноз

**Пример:* клиника МНИИ педиатрии и детской хирургии: сопоставление диагнозов в направлении на госпитализацию и окончательных диагнозов – в 65%-70% - ошибка!

* Минайчева Л.А., Назаренко Л.П. Выявление редкой наследственной патологии путем совершенствования медико-генетической помощи пациентам с врожденными пороками развития. Мед.генетика, №10, 2015

Уровни профилактики генетических заболеваний в популяции

- Медико-генетическое консультирование – первый уровень профилактики ВПР и НЗ – реально обращается 1-2% семей, планирующих беременность.

- Пренатальный скрининг на ВПР и хромосомные аномалии – второй уровень профилактики – в РФ скрининг проводится только на 3 трисомии (18,21,13).

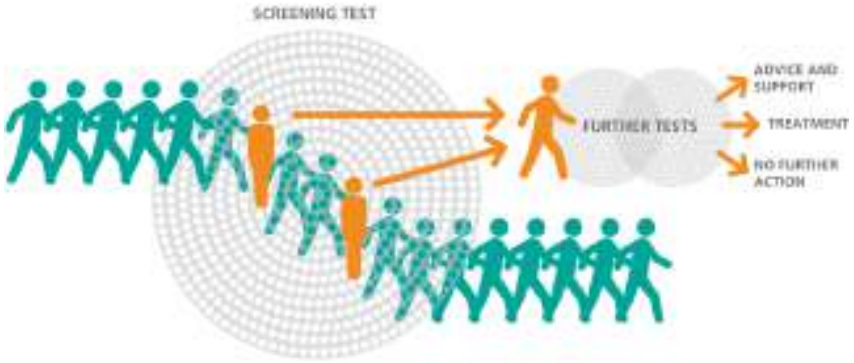
- Неонатальный скрининг – третичная профилактика – с 2006 г. включает 5 заболеваний: фенилкетонурия, врожденный гипотиреоз, адрено-генитальный синдром, муковисцидоз, галактоземия. С 2008-2009 г. добавился ***селективный скрининг*** новорожденных на самые частые наследственные болезни обмена (НБО) в некоторых регионах (Москва и МО, Санкт-Петербург, Екатеринбург, Томск).

Неонатальный скрининг

- массовое обследование новорожденных с целью выявления наследственных заболеваний при отсутствии клинических симптомов.

•Главная задача –

•формирование контингентов (групп риска), имеющих наибольшую вероятность заболевания и подлежащих диагностическим исследованиям



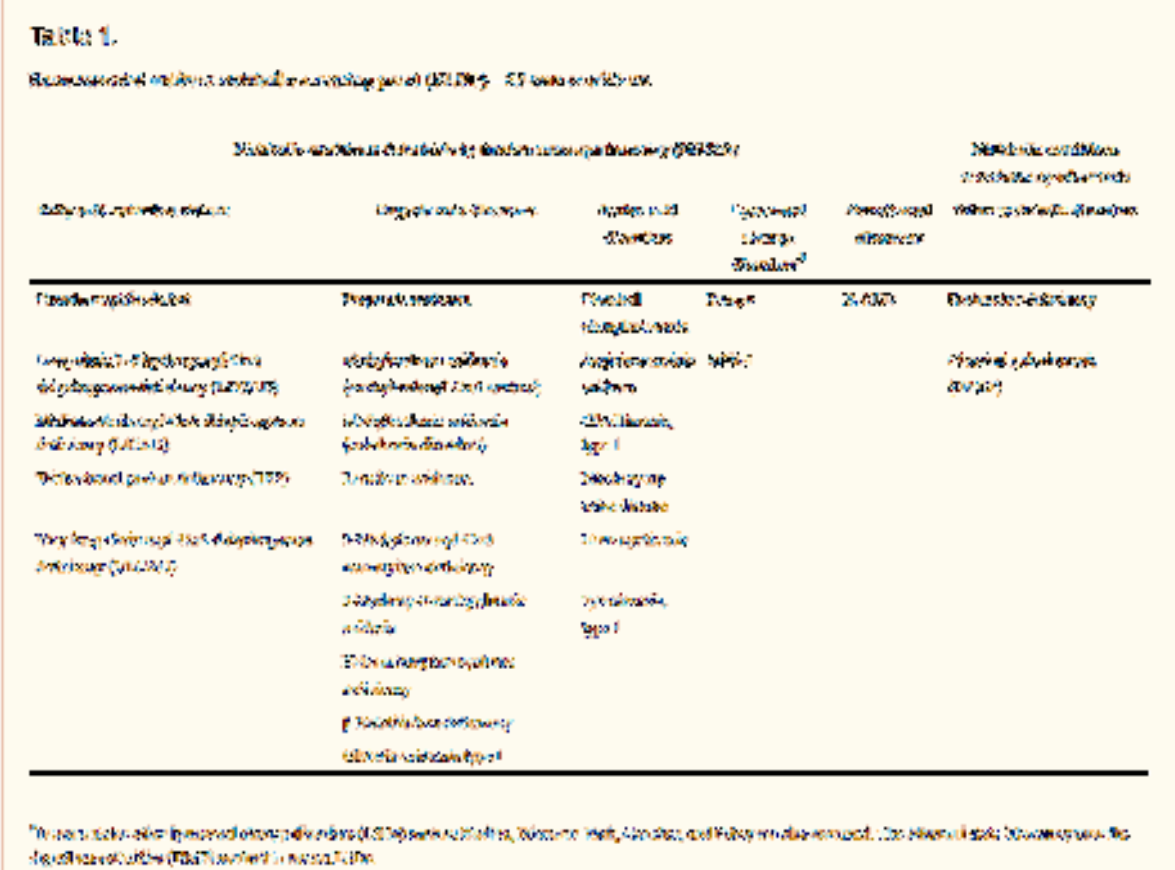


Table 1.

Неонатальный скрининг РФ

Нормативно-правовая база:

•Приказ Министерства здравоохранения и социального развития №185 от 22 марта 2006 г. «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания»

•Распоряжение Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга от 29.05.2006 N 220-р;

5 заболеваний:

- муковисцидоз;
- фенилкетонурия;
- галактоземия;
- врожденный гипотиреоз;
- адрено-генитальный синдром.

Этапы неонатального скрининга

- 1-й этап — забор крови у новорождённых из пятки в родовспомогательных учреждениях на 4-5 день жизни. Доставка высушенных образцов крови в течение 10 дней в МГК.

- 2-й этап —проведение первичного скрининга по определению соответствующих лабораторных показателей.

- 3-й этап — вызов и повторный забор крови при положительных результатах. Контроль качества лабораторных анализов 2-го и 3-го этапов проводятся в федеральных референсных центрах.

- 4-й этап — проведение подтверждающей диагностики.

- Консультация врача-генетика, дополнительное обследование, направление в специализированные центры, назначение лечения.

- • 5-й этап — МГК и пренатальная ДНК-диагностика в семьях, где родился больной ребёнок. Это осуществляется в медико-генетических консультациях.

Диагностическая информативность двукратного биохимического скрининга НБО

I этап

- МВ — Иммунореактивный трипсиноген (ИРТ
- ФКУ — Фенилаланин (ФА)
- ГА — Общая галактоза (ГАО)

II этап

Ретест

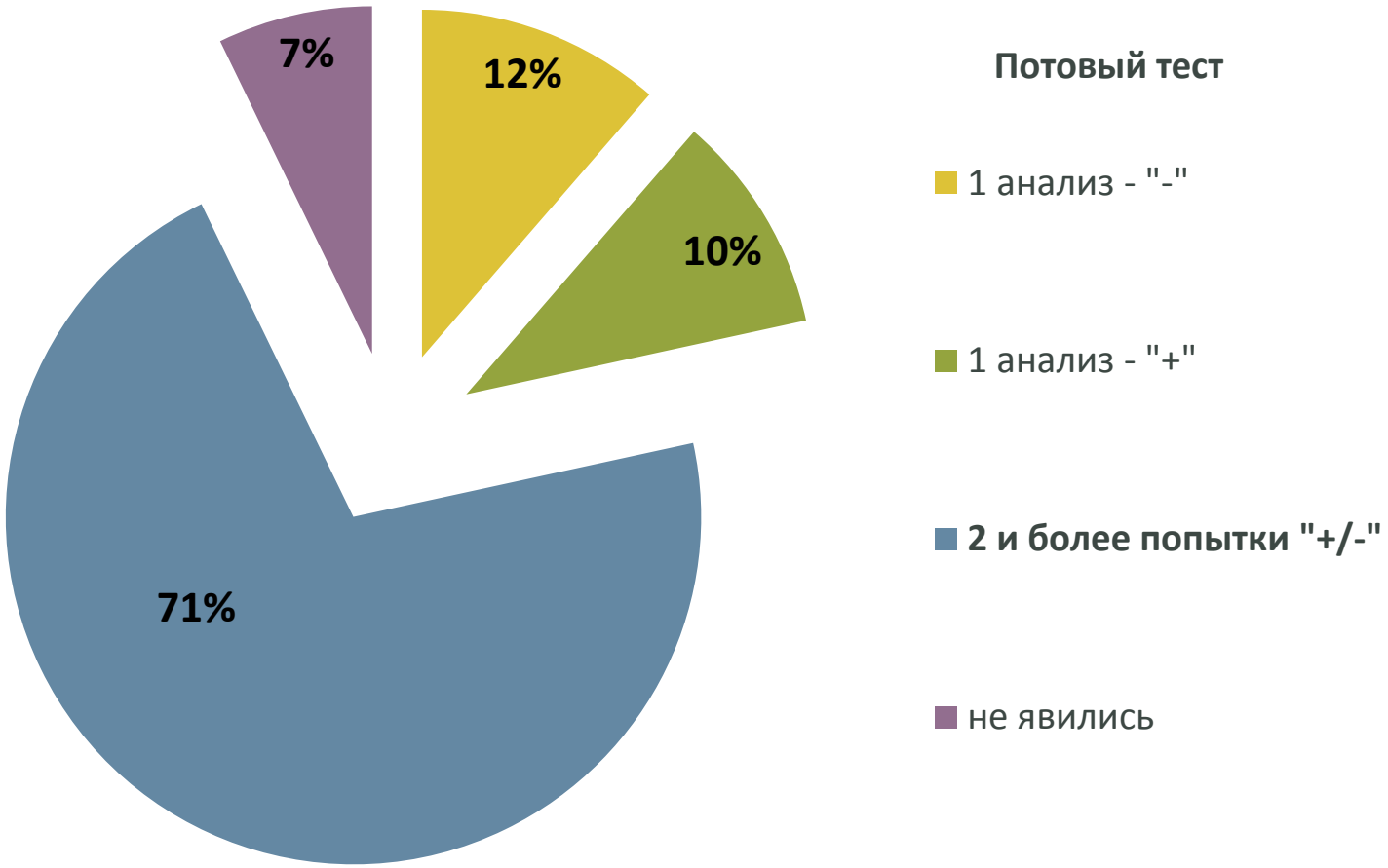
Показатель	Муковисцидоз	Фенилкетонурия	Галактоземия
Se (%)	94	97	75
Sp (%)	99.9	100	99.7
Prevalence	0.00017	0.00018	0.000015
PPV (%)	**12**	**44**	**0.6**
False-positive (%)	88	56	99.4

*СПбГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический), n=196217 новорожденных, 2015-2018 гг

III этап программы скрининга: подтверждающая диагностика (или её отсутствие?)

I этап		II этап	III этап
МВ	Иммунореактивный трипсиноген (ИРТ)	Ретест	Потовый тест
ФКУ	Фенилаланин (ФА)		?
ГА	Общая галактоза (ГАО)		?

Диагностика муковисцидоза – потовый тест:



Критерии эффективности скрининга Wilson и Junger (ВОЗ, 1968г.):

- Заболевание, являющееся предметом скрининга, должно быть важной проблемой здравоохранения, т.е. встречаться часто и/или быть достаточно тяжелым;
- Тест, используемый для скрининга, должен быть точным, приемлемым для обследования большого по численности контингента (популяции), достаточно простым в осуществлении, безопасным и относительно недорогим.
- При получении положительного результата программа скрининга должна гарантировать немедленное проведение **углубленного обследования** и лечения в полном объеме.
- ……

Секвенирование следующего поколения (next-generation sequencing, NGS)

- автоматизированная технология массового параллельного прочтения фрагментов ДНК, позволяющая определить последовательность гена с точностью до 1 нуклеотида.

Ключевые особенности NGS:

- - увеличение числа детектируемых мутаций;
- - возможность проанализировать весь г

исследование структуры ДНК с точностью до 1 нуклеотида

исследование сразу нескольких участков генома

- мультигенные панели – одновременная диагностика нескольких заболеваний;

исследование нескольких десятков образцов за 1 реакцию

исследование регионов «интереса»

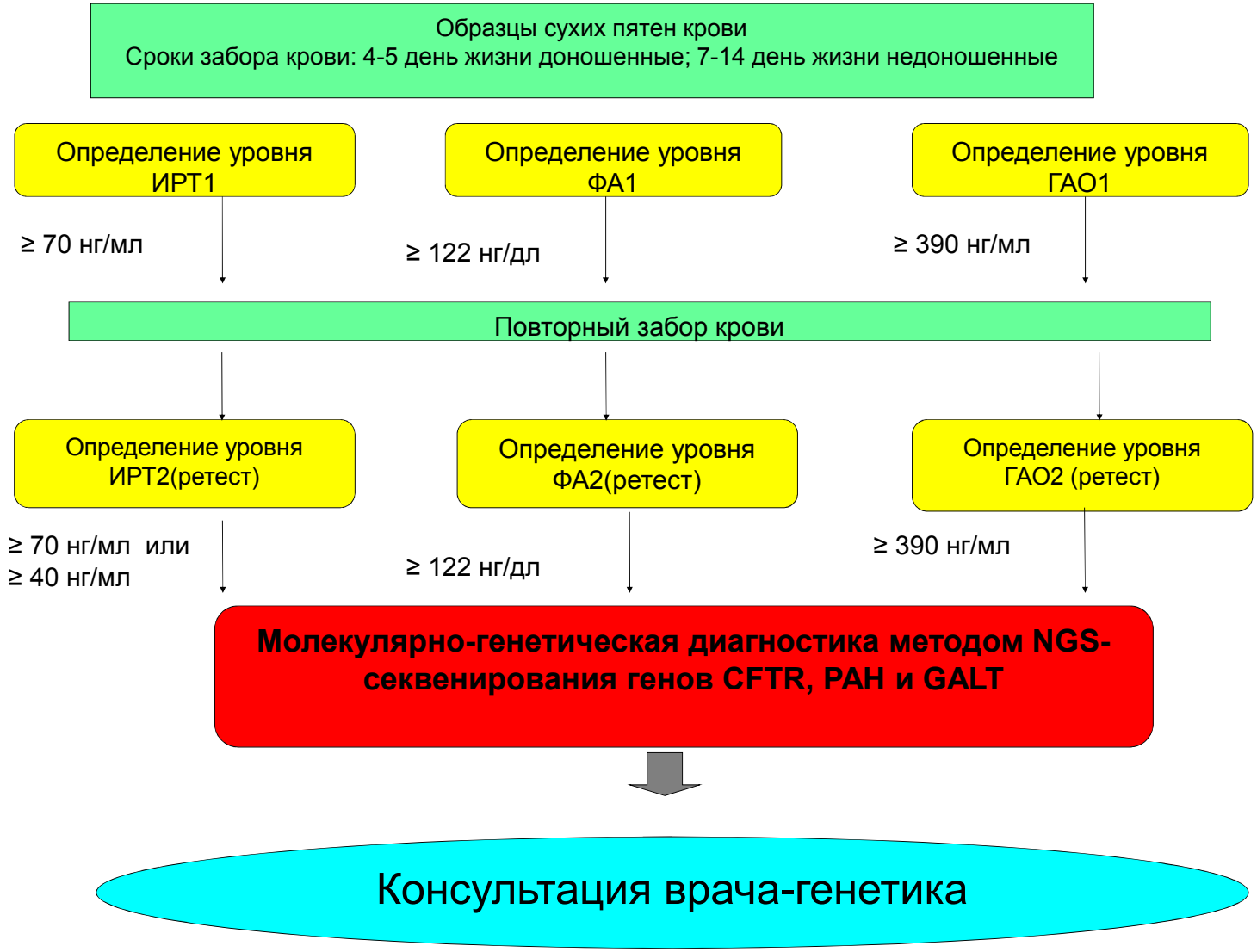
- - ускорение диагностики;
  - снижение стоимости анализа.

- снижение количества случайных находок

Опыт применения NGS в программе массового неонатального скрининга

СПбГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)» 2015 – 2019 гг.

Новый алгоритм неонатального скрининга с применением таргетного NGS-секвенирования



Материалы и методы исследования

Группы обследуемых	n (количество)
Неонатальный скрининг в рамках существующего алгоритма (новорожденные с 01.01.2015 г. по 01.01.2018г.):	196217
Неонатальный скрининг по предложенному алгоритму:	968
1. Муковисцидоз (новорожденные с повышенным ИРТ при ретесте)	264
2.Фенилкетонурия (новорожденные с повышенным ФА при ретесте)	80
3. Галактоземия новорожденные с повышенным ГАО при ретесте)	514
4. Контрольная группа (здоровые с нормальными уровнями ИРТ,ФА,ГАО)	110

Панель VariFind Neonatal Assay

Технические характеристики VariFind Neonatal Assay	
Диагностируемые заболевания	Муковисцидоз, Фенулкетонурия, Галактоземия
Анализируемые гены	CFTR, PAH, GALT
Анализируемые маркеры	CFTR : 319 мутаций, PAH: 74 мутации, GALT: 34 мутации
Суммарная длина таргетного региона	16Kb
Мультиплексирование	До 48 образцов за одну постановку

Аналитические характеристики VariFind Neonatal Assay	
Аналитическая чувствительность	99,34%
Аналитическая специфичность	97,22%
Общая точность	99,99%

Диагностические характеристики VariFind Neonatal Assay	
Диагностическая чувствительность	99,31%
Диагностическая специфичность	100%
Аналитическое превосходство	147,31%

- Секвенирование генов *CFTR, PAH, GALT*
- Единственное клинически валидированное решение для NGS – сертифицировано IVD CE-mark;
- Широкий спектр детектируемых мутаций обуславливает высокую чувствительность теста и его мультиэтничность
- Мультиплексирование позволяет снизить стоимость одного анализа

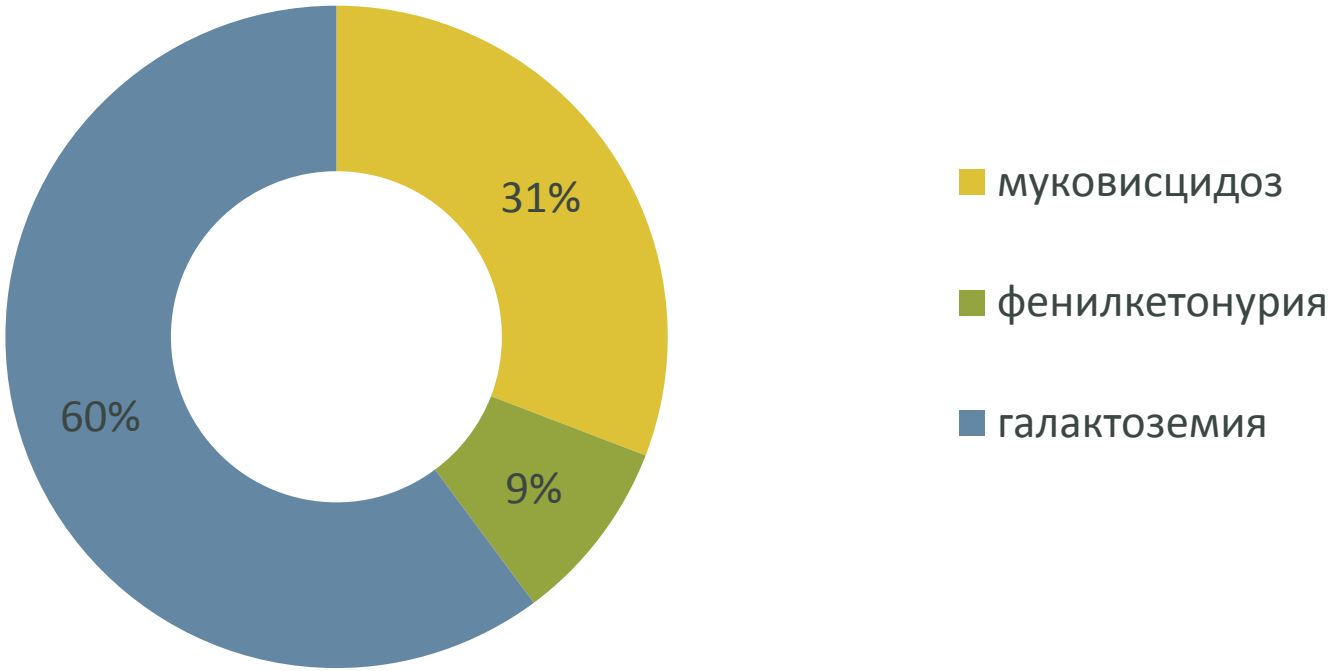
«+» - возможность выделения ДНК из сухого пятна крови

↓

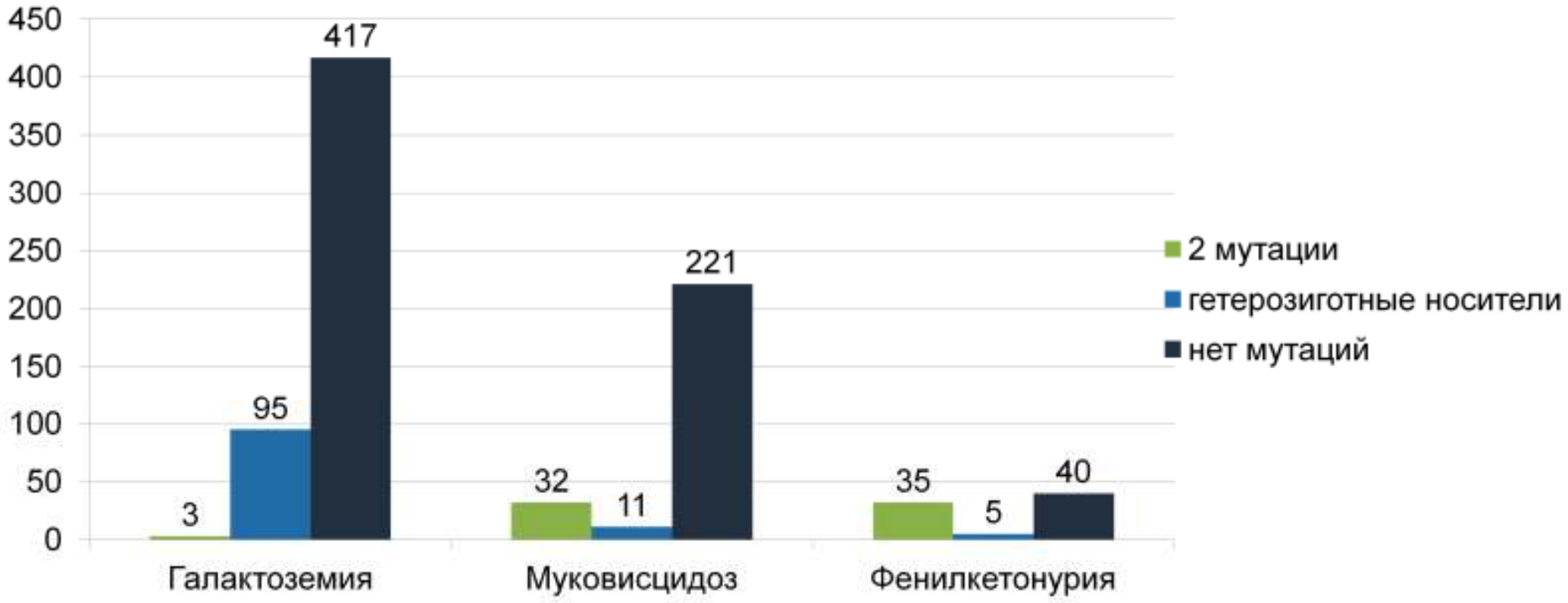
отсутствует необходимость повторного забора крови

Структура обследованных по нозологиями

Выборка 968 новорожденных с повышенными результатами скрининга



Структура обследованных по генотипам



Генетика муковисцидоза

- Муковисцидоз (кистозный фиброз) – аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутациями в гене CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Белок CFTR, функционируя как цАМФ-зависимый хлорный канал, регулирует работу других хлорных и натриевых каналов, участвуя в транспорте воды и электролитов в клетках.

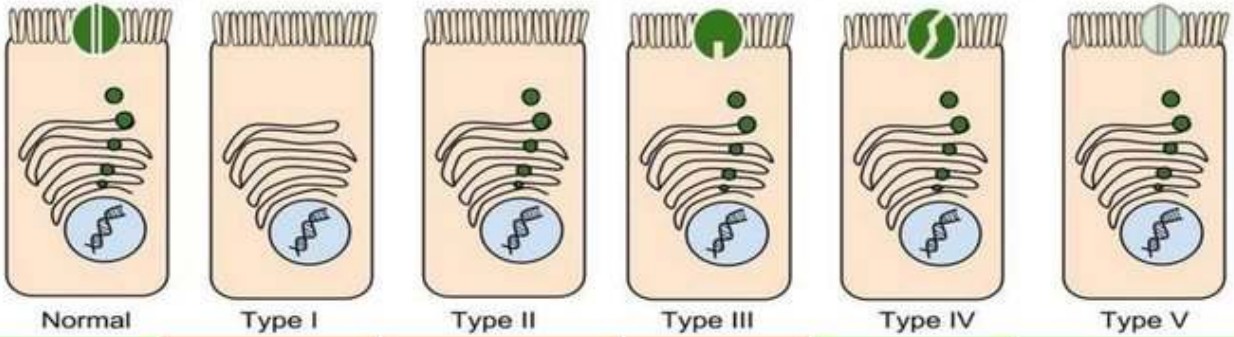
- Ключевой момент в развитии заболевания – нарушение экзокринной функции желез, главным образом в дыхательном и желудочно-кишечном тракте.

- Частота в различных регионах России: от 1:8507 до 1:12972.*

- * Капранов, Каширская Проблемы организации и совершенствования медицинской и социальной помощи больным муковисцидозом в России на современном этапе, Лечебное дело, Т2, 2010.

Генетика муковисцидоза

Классификация мутаций гена CFTR2ст №2



N	I	II	III	IV	V-VI
	Нет синтеза Терапия разрабатывается	Нарушена сборка белка Корректоры VX-809 (люмакафтор) VX-661 N6022 (+противовоспалительное действие)	Блок канала	Быстрое закрытие канала	Снижено кол-во N белка
			Потенциаторы – восстановление (активация) функции ионного канала Калидеко (ивакафтор,VX-770)		

16

Скрининг на муковисцидоз:

Выборка **264** новорожденных с повышенным результатом ретеста:

-89% - ложноположительные результаты;

Скрининг на муковисцидоз – основные проблемы:

II. Сроки забора крови для ре-теста:

• *«Идеальный скрининг» 2 значения «cut-off»:

максимальная чувствительность – ИРТ1- до 21 дня жизни (обычно 3-4й) - <70 нг/мл;

*83% ложно-положительных результатов

↓

максимальная специфичность – ИРТ2 - с 21 по 28 день жизни - **< 40 нг/мл.**

↓

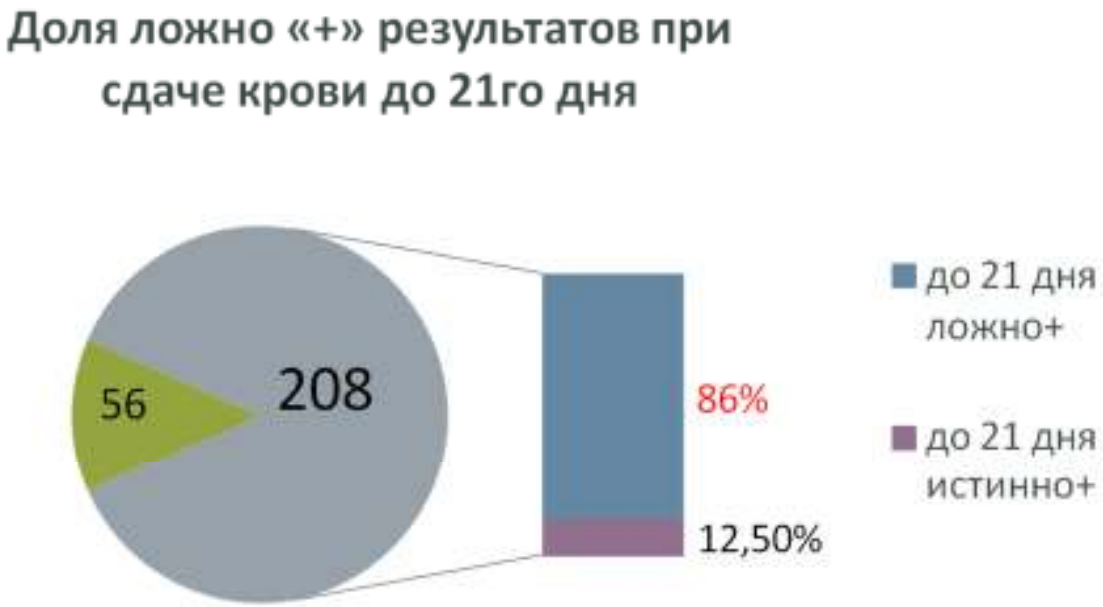
минимум ложно-положительных результатов.

↓

«Реальный скрининг»: ≈80% - срок забора крови до 21го дня!

*P. DANDONA et al. SERUM LIPASE AND TRYPSIN IN NEONATAI DETECTION OF CYSTIC FIBROSIS J Lancet 1984

Анализ алгоритма обследования ИРТ1/ИРТ2:



Скрининг на муковисцидоз – основные проблемы:

III. Отказ родителей от проведения потового теста и дальнейшего наблюдения

IV. Отсутствие обязательной подтверждающей ДНК-диагностики

Пациенты с муковисцидозом

- Пациент Б, роды срочные, вес – 2920 г, рост – 49 см, оценка по Апгар – 7/8 б.

1е сутки – по тяжести состояния переведен в ДГБ№1, Д-з: ВПР, изолированный заворот петли тонкой кишки, врожденный стеноз подвздошной кишки. Прооперирован.

Неонатальный скрининг: ИРТ-43,5 нг/мл (РП до 70нг/мл). Выписка из истории болезни:

«…выраженная мышечная гипотония, быстрая истощаемость сосательного рефлекса, с объемом питания не справляется, весовая кривая «плоская». Дыхательные нарушения: тахипноэ, нарушение «механики» дыхания. Копрограмма: жирные кислоты 2+. Обсуждена на обходе с профессором Ш., в углубленном исследовании на муковисцидоз не нуждается. Осмотрена доцентом гастроэнтерологом Д., предположение об аллергической энтеропатии….»

- Врач-генетик: спустя 2 месяца – потовая проба – 109 ммоль/л (РП 60 ммоль/л), анализ ДНК на частые мутации в гене CFTR – F508del/N,

- NGS - F508del/**2721del11**.

Пациенты с муковисцидозом

- Пациент М., скрининг: ИРТ1 – 130 нг/мл (РП – 70нг/мл), ИРТ2 – 129нг/мл (РП – 70нг/мл),

a)Потовый тест – 70 ммоль/л, 59 ммоль/л, 76 ммоль/л («серая зона» – 60-80 нг/мл),
b)Анализ ДНК на частые мутации в гене CFTR – мутаций не обнаружено.
c)Доп. исследование: уровень фекальной эластазы: 500 мкг/г (РП – выше 500 мкг/г),

- NGS в возрасте 1 г. 8 мес: компаунд-гетерозигота S466X/**S1159P**

S1159P (аннотация в БД CFTR1: впервые описана в компаунде с F508del у пациента с легочной формой заболевания). Аннотация в России в 2015г*. – в компаунде с Y569H у пациента с «мягким» фенотипом: панкреатическая недостаточность, без легочных проявлений. Вариант протестирован с помощью пограмм-предикторов патогенности – SIFT, PolyPhen-2, результат – патогенный.

*Tamara Simakova et al. Identification of a novel, CF-causing compound genotype (p.S1159P and p.Y569H) using an NGS-based assay Novel CF-causing compound p.S1159P and p.Y569H genotype. J Elsevier 2015

Пациенты с муковисцидозом

- Пациент М2, антенатально по УЗИ – расширение толстого кишечника, атрезия ануса ?

В первые сутки переведен в ДГБ№1, Rg – картина низкой кишечной непроходимости. Пост-операционный диагноз: Мекониевый перитонит, кистозная форма. Заворот подвздошной кишки. Некроз и перфорация тонкой кишки.

Скрининг: ИРТ1- 165 нг/мл (РП – 70 нг/мл), ИРТ2 – 94 нг/мл (РП – 70 нг/мл),

Потовая проба – не проведена.

ДНК анализ на частые мутации – F508del/N – гетерозиготное носительство.

NGS: F508del/**R792X**

Пациенты с муковисцидозом

- Пациент В, Ярославский перинатальный центр, клинический диагноз: «Транзиторное тахипноэ, недоношенность 35-36 недель. Ранняя неонатальная гипогликемия. Динамическая кишечная непроходимость. Конъюгационная гипербилирубинемия. Высокий риск реализации внутриутробной инфекции.» В ОРИТ – тяжелая дыхательная недостаточность. **Скрининг не проведен.**

- Переведен в ОДКБ, диагноз: «ВУИ: цитомегаловирусная инфекция: энцефалит, энтероколит 1 фаза, тяжелая». Спустя 8 мес. поступил в ОРИТ НИИДИ – тяжелая дыхательная недостаточность, отсутствие весовых прибавок и выраженные электролитные нарушения, осмотрен генетиком, проведена потовая проба – 136 ммоль/л. Анализ ДНК на частые мутации – не обнаружено мутаций.

- NGS**: 3120+1G>A/ 3120+1G>A. При проведении МГК выяснилось, что родители пробанда находятся в близкородственном браке.**

Скрининг на галактоземию

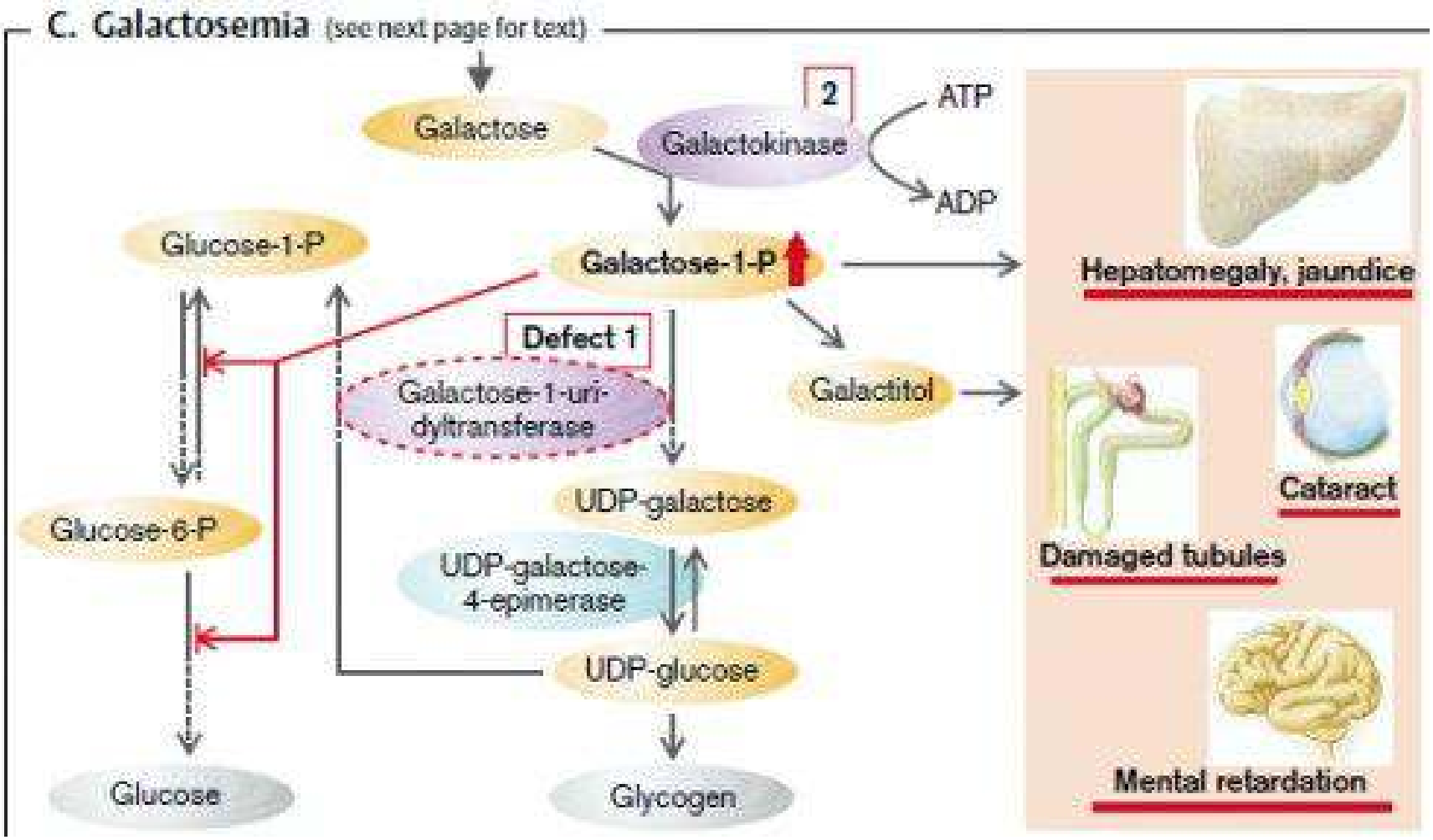
- Галактоземия - наследственное аутосомно-рецессивное нарушение обмена углеводов, при котором в организме накапливается избыток галактозы и ее метаболитов (галактозо-1-фосфата и галактитола), что обусловливает клиническую картину заболевания и формирование отсроченных осложнений.

- 3 фермента, участвующих в превращении галактозы в глюкозу.

- Частота в РФ: 1:9410 – 1:84 873. В СЗФО – 1:12 531*

* Новиков П.В. ПЕРВЫЕ ИТОГИ РАСШИРЕННОГО НЕОНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА НА НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, Российский вестник перинатологии и педиатрии

Путь Лелуара (метаболизм галактозы)



3 формы галактоземии

- **Классическая - галактоземия I типа**, обусловленная дефицитом фермента галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы (ГАЛТ), активность фермента – менее 5 %. Этот тип галактоземии также включает в себя вариант Дуарте (биохимический вариант, активность фермента ≈25%).

- Недостаточность галактокиназы (ГАЛК) (**галактоземия II типа**).

- Дефицит уридиндифосфат-галактозо-4-эпимеразы (ГАЛЭ или эпимеразы) – **галактоземия III типа**.

Клинические проявления: печеночная недостаточность, желтуха, нарушение функций канальцев почек, сепсис (за счет ингибирования бактерицидной активности лейкоцитов), катаракта (накопление галактотитола).

Скрининг на галактоземию:

<u>Биохимический маркер - общая галактоза:</u>

- «Cut-off» : ≥ 390 мкмоль/л
- Не специфичный (90% ложно«+» результатов);

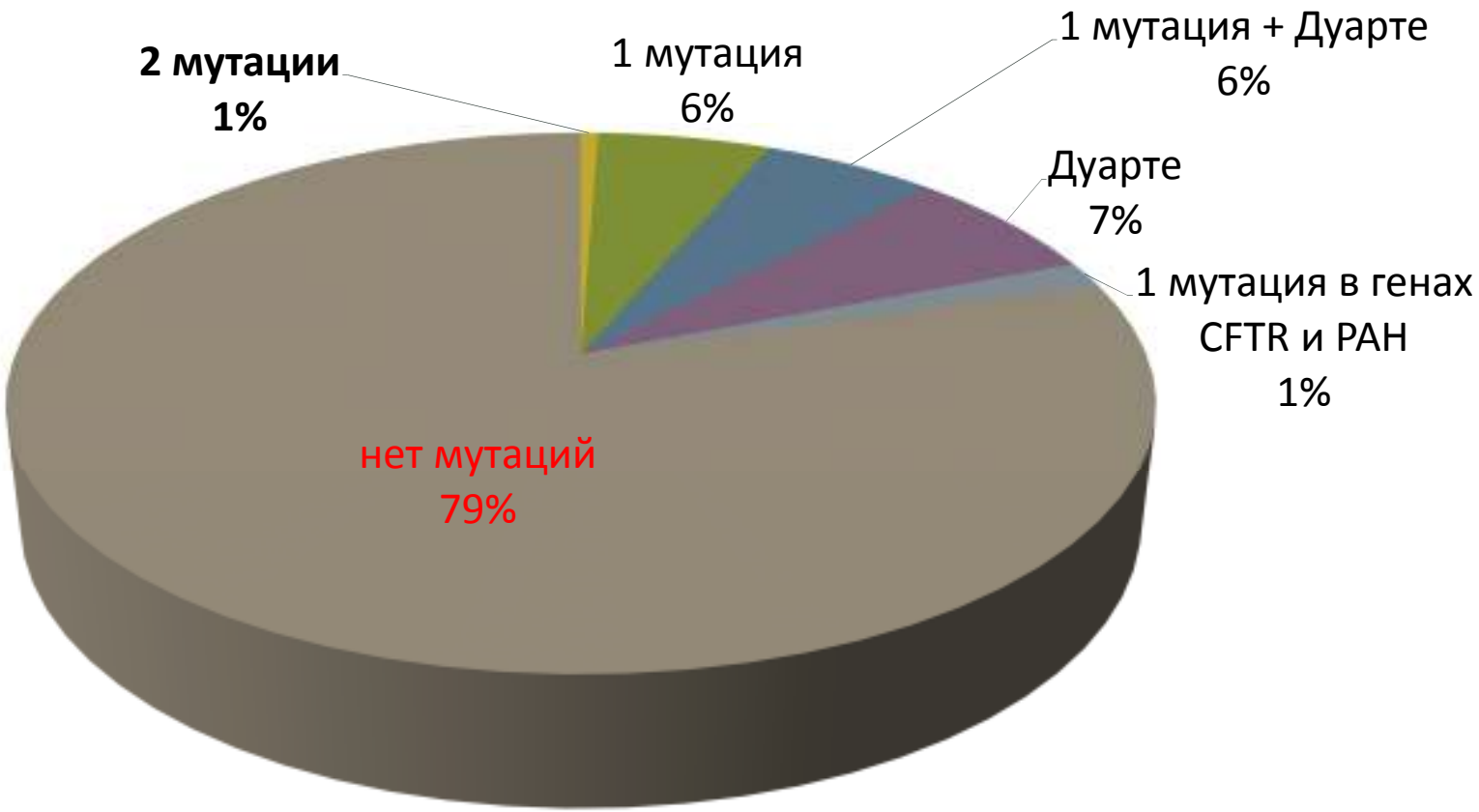
- Биохимический вариант Дуарте (доброкачественный, не требует лечения) сопровождается повышением уровня общей галактозы.

Скрининг на галактоземию:

- Отсутствуют подтверждающие тесты для диагностики классической галактоземии: при получении повышенных значений скрининга ребенок направляется на консультацию к врачу-генетику, который назначает повторный тест общей галактозы:

Скрининг на галактоземию:

Выборка 515 н/р с повышенными значениями ретеста ГАО2.



Скрининг на галактоземию:

Пациенты с галактоземией

- Пациент Л., Крым, скрининг не проводился, с первых дней жизни – состояние тяжелое – гипербилирубинемия, желтуха, дыхательная недостаточность, переведен в ОРИТ – картина полиорганной недостаточности.

- В СПбГКУЗ МГЦ доставлен бланк сухого пятна крови для ДНК исследования на муковисцидоз.

- NGS: ген GALT- **Q188R/K285N. Диагноз : классическая галактоземия.**

Пациент с генетическим диагнозом галактоземия

- Пациент М, ГАО1 – 1492 мкмоль/л (РП – 390 мкмоль/л), ГАО2 – 898 мкмоль/л (РП – 390 мкмоль/л).

- Транзиторная желтуха новорожденных.

- NGS: Q188R/ **P66L?** Проведено тестирование родителей, подтверждено транс-положение обнаруженных мутаций.

Вариант описан в качестве патогенного в базах данных ClinVar, HGMD, ARUP, однако опубликованных данных нет.

Фенилкетонурия

- **Фенилкетонурия (phenylketonuria; ФКУ)** – группа аутосомно-рецессивных заболеваний, обусловленных нарушением обмена незаменимой аминокислоты фенилаланина (ФА), поступающей в организм человека с белковой пищей. ФКУ объединяет несколько генетически гетерогенных форм нарушения обмена фенилаланина, сходных по клиническим признакам: классическая ФКУ (ФКУ I типа), обусловленная дефицитом фенилаланин-4- гидроксилазы (ФАГ) и птерин-зависимые формы гиперфенилаланинемии, связанные с дефектом птеринового кофактора (ФКУ II и III типов).

- Частота в РФ: от 1:5293 до 1:11 688, в СЗ ФО - 1:5293*

* Новиков П.В. ПЕРВЫЕ ИТОГИ РАСШИРЕННОГО НЕОНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА НА НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, Российский вестник перинатологии и педиатрии

Фенилкетонурия

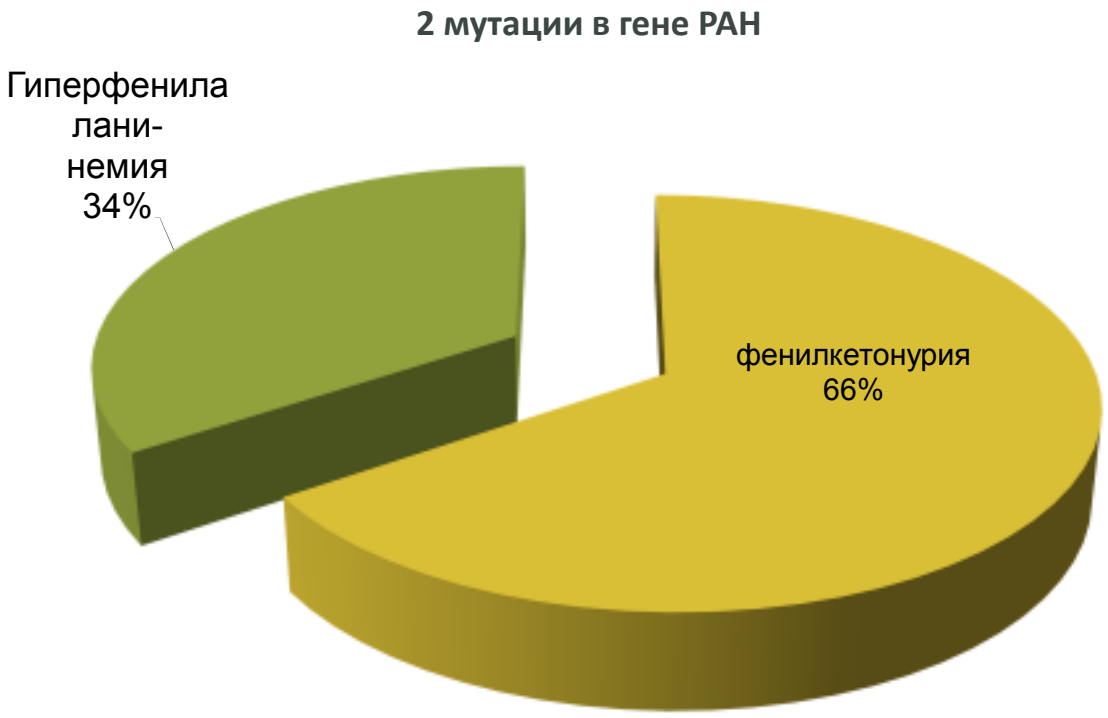
- **Классическая форма ФКУ** (тип I, дефицит ФАГ) - ФА выше 20 мг/дл (1200 мкмоль/л).

- **Средняя форма ФКУ** - заболевание с уровнем ФА 10,1 - 20 мг/дл (600 - 1200 мкмоль/л), а также при уровне ФА 8,1 - 10 мг/дл, если он устойчив в крови ребенка на фоне физиологической нормы белка в рационе.

- **Легкая (доброкачественная) ГФА** - уровень ФА 2,1 – 8,0 мг/дл (126 - 480 мкмоль/л). Эта форма ГФА обычно не требует специального лечения, однако такие дети должны находиться под наблюдением врача в течение первого года жизни с ежемесячным контролем уровня ФА крови.

Скрининг на фенилкетонурию:

Скрининг на фенилкетонурию:



Скрининг на фенилкетонурию:

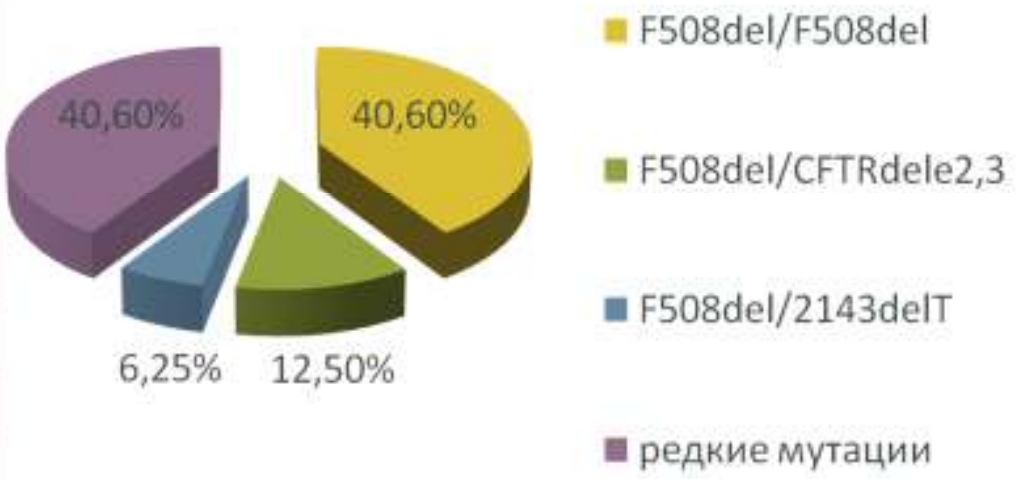
Результаты

Сравнительный анализ алгоритмов скрининга

Показатель	ИРТ1/ ИРТ2	ИРТ1/ ИРТ2 + NGS	ФА1/ФА2	ФА1/ФА2 + NGS	ГАО1/ ГАО2	ГАО1/ ГАО2 + NGS
Чувствительность	94%	97%	97%	92%	75%	75%
Контр-чувствительность	5,9%	3%	2,7%	8%	25%	25%
Специфичность	99,9%	100%	100%	100%	99,7%	99,8%
Контр-специфичность	0,1%	0%	0,02%	0%	0,3%	2%
Прогностическая ценность положительного результата	**12%**	**97%**	**44%**	**97%**	**0,6%**	**75%**
Контр-предсказательность положительного результата	**88%**	**3%**	**56%**	**3%**	**99,4%**	**25%**
Прогностическая ценность отрицательного результата	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Отношение правдоподобий для положительного результата	789	190417	4150	180277	289	385

Генотипы пациентов с двумя мутациями в гене CFTR

Мутация №1	Мутация №2	Количество
F508del	F508del	13
F508del	CFTRdele2,3(21kb)	4
1259 insA	1259 insA	1
2143delT	K598X	1
3120+1G>A	3120+1G>A	1
CFTRdele2,3(21kb)	Q98X	1
F508del	1811+1,6kbA>G	1
F508del	2143delT	2
F508del	2184insA	1
F508del	2721del11	1
F508del	R1066C	1
F508del	**R117H**	1
F508del	R792X	1
CFTRdele2,3(21kb)	G542X	1
F508del	W1282X	1
R334W	2143delT	1



Соотношение идентифицированных мутаций при ФКУ

Опыт применения NGS в программе селективного неонатального скрининга

СПбГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)» 2015 – 2019 гг.

Трудный диагноз

- Возраст манифестации : 1й день жизни – 65 лет
- Провоцирующие факторы: инфекция, хирургическое вмешательство, травма
- Отсутствие специфических клинических симптомов:
  - Лихорадка
  - Кишечные расстройства (рвота, диарея)
  - Эпилептические приступы
  - Мышечная гипотония/ригидность/дистония
  - Гепатоспленомегалия
  - Поражения сердца
  - Б/х: ацидоз, гипогликемия

Тандемная-масс спектрометрия (аминокислоты и ацилкарнитины)

Аминоацидопатии

Лейциноз (1:185 000)
ФКУ (1:8000)
Тирозинемия тип 1 (1:100 000)
Некетотическая Гиперглицинемия (1:55 000)
Цитрулинемия (1:250 0000)

Органические ацидурии

Глутаровая ацидурия тип 1 (1:30 000)
Пропионовая ацидемия (1:50 000)
Метилмалоновая ацидурия (1:48 000)
Изовалериановая ацидурия (1:50 000)

Дефекты β-окисления

Недостаточность КЦАД
Недостаточность СЦАД (1:8000)
Недостаточность ОДЦАД
Недостаточность ДЦГАД
Другие дефекты β-окисления

eppendorf
Centrifuge 5810 R

VariFind™ METAB assays

53

Панель	Группы нозологий	Пример нозологии	Гены	Размер панели	Размер регион	Хот-споты
AO	Нарушения обмена органических кислот	Метилмалоновая ацидурия	31	114 977	53 103	749
FAO	Нарушения окисления жирных кислот	Недостаточность среднецепочечной ацетил-КоА дегидрогенза жирных кислот	20	79 757	39 451	578
AA	Нарушения обмена аминокислот	Тирозинемия I, II, III	37	136 114	NA	1104

Пациент	Показатели (ТМС)	ген	Обнаруженные мутации	Диагноз
1) Л., 28.02.2006	↑ C16:1, C14:1, C14	ACADVL	c.37G>T (Q13X) c.554G>C (G109A)	Недостаточность очень длинноцепочечной ацилКоА ДГ жирных кислот
2) О., 20.08.11	↑C5, C6, C8, C10, C12, C14, C14:1, C16:1	ETFB	c.655G>A (D129N) c.655G>A (D129N)	Глутаровая ацидурия 2 типа
3) С., 20.09.2013	↑C5OH/C4DC	BTD	c.100_104delinsC c.100_104delinsC	Недостаточность биотинидазы
4) У., 06.02.2019	↑C3	MUT PCCA MMAA	c.314G>A/c.314G>A (W105X) c.937C>T(R313X)/c.1430-16A>G c.1089G>C/na	Метилмалоновая ацидурия
5) М., 17.06.2015	↑C5DC в 16 раз	GCDH	c.1204C>T (R402W) c.670G>A (V224M)	Глутаровая ацидурия 1 типа
6) И., 29.09.2018	↑C3	MMAHCH	c.271dup (271dupA) c.547_548del (547_548del)	Метилмалоновая ацидурия
7) П., 24.01.2008	↓C18	CPT1B	c.1166+12_1166+13delinsCG c.886-6C>T	CPT-1

Краеугольные камни алгоритма с использованием NGS

Сложности в интерпретации редких вариантов/вариантов с неизвестной клинической значимостью;

Ограничения метода – крупные делеции, инсерции, poly-T тракты

Дорогостоящее подтверждение редких вариантов у родителей;

Выводы:

- Диагностическая эффективность алгоритмов скрининговых программ максимальна при комбинации высокочувствительных методов (как правило, биохимических) с высокоспецифичными (молекулярно-генетическими, в случае наследственных заболеваний);

- Метод NGS, позволяющий «таргетно» исследовать геном, оптимален для скрининговых программ благодаря высокой производительности, а также возможности избегать случайных находок;

- Секвенирование всего гена позволяет обнаруживать «мягкие» мутации: около 50% обнаруженных аллелей в гене CFTR и 85% аллелей в гене PAH оказались редкими и не входят в панели на частые мутации;

- Отсутствует необходимость повторного забора крови у новорожденных с повышенными результатами ре-теста, т.к. для метода NGS позволяет достаточно количества ДНК, выделенного из сухого пятна крови;

Чурюмова Ю.А., Вохмянина Н.В., Использование новых технологий диагностики для выявления наследственных болезней обмена., Медицинская генетика, т.10, 2017

«Результаты достигаются не путем решения проблем, а путем использования возможностей.»

Принцип Друкера.

Чурюмова Юлия Александровна,
СПбГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»
chury.yuliya@gmail.com
+7-911-190-15-77