

Разработка и применение таргетных панелей NGS в алгоритме селективного скрининга наследственных болезней обмена. Опыт Санкт-Петербургского медико-генетического центра

Чурюмова Ю.А.^{1,2}, Вохмянина Н.В.¹, Шляга С.В.¹, Вавилова Т.В.², Симакова Т.С.³, Зайцева М.А.³, Павлов А.Е.³

1 — СПбГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)

194044 г. Санкт-Петербург, ул.Тобольская, д. 5

2 — ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

3 — ООО Парсек Лаб

197350, г. Санкт-Петербург, дорога В Каменку, д.74А, пом. 1-н, к. 347

Наследственные болезни обмена веществ представляют собой обширный класс генетических заболеваний и вносят значительный вклад в детскую заболеваемость, при этом их диагностика с использованием биохимических методов зачастую вызывает затруднения. В СПбГКУЗ МГЦ были разработаны и внедрены три панели для секвенирования 88 генов, ответственных за развитие трех групп наследственных болезней обмена (НБО), и протестировано 84 ребенка, у которых данные заболевания были заподозрены по данным тандемной масс-спектрометрии (ТМС), либо по наличию клинических симптомов. У 6 детей методом NGS полностью установлена генетическая причина заболевания. Патогенные мутации выявлялись значительно чаще при повышении биохимических маркеров, демонстрируя ведущую роль предварительного биохимического скрининга в проведении NGS анализа. NGS значительно повышает результативность клинической диагностики НБО. Биохимическое тестирование и NGS играют взаимодополняющие роли, и их комплексное использование в алгоритме селективного скрининга позволяет повысить точность диагностики НБО.

Ключевые слова: наследственные болезни обмена, тандемная масс-спектрометрия, NGS

Для цитирования: Чурюмова Ю.А., Вохмянина Н.В., Шляга С.В., Вавилова Т.В., Симакова Т.С., Зайцева М.А., Павлов А.Е. Разработка и применение таргетных панелей NGS в алгоритме селективного скрининга наследственных болезней обмена. Опыт Санкт-Петербургского медико-генетического центра. *Медицинская генетика* 2020; 19(7): 66-68

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.66-68

Автор для корреспонденции: Чурюмова Юлия Александровна; e-mail: chury.yuliya@gmail.com

Финансирование. Комитет по здравоохранению Санкт-Петербурга.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Development and application targeted NGS panels in the selective screening algorithm for inborn errors of metabolism. An experience of the St. Petersburg Medical and Genetic Center

Churyumova Y.A.^{1,2}, Vokhmyanina N.V.¹, Shlyaga S.V.¹, Vavilova T.V.², Simakova T.S.³, Zaytzeva M.A.³, Pavlov A.E.³

1 — St.Petersburg Medical and Genetic Center

Tobolskaya str.,5, St.Petersburg 194044, Russia

2 — Almazov National Medical Research Centre

Akkuratova str., 2, St. Petersburg 197341, Russia

3 — Parseq Lab Co. LTD

doroga v Kamenku 74A, Pomeschenie 1-H, Of. 347, St. Petersburg, 197350, Russia

Inborn errors of metabolism are an extensive class of genetic diseases and contribute significantly to childhood morbidity, and their diagnosis using biochemical methods is often difficult. Three panels for sequencing of 88 genes responsible for the development of three groups of inborn errors of metabolism (IEM) were developed and introduced in St.Petersburg Medical and Genetic Center and 84 children were tested for which these diseases were suspected by tandem mass-spectrometry or by the presence of clinical symptoms. In 6 children, the NGS method fully established the genetic cause of the disease. Pathogenic mutations were detected significantly more frequently with increased biochemical markers, demonstrating the leading role of pre-biochemical screening in performing NGS analysis. NGS significantly improves the clinical diagnostic effectiveness of IEM. Biochemical testing and NGS play complementary roles and their complex use in selective screening algorithm allows to increase accuracy of IEM diagnostics.

Key words: inborn errors of metabolism, tandem mass-spectrometry, NGS

For citation: Churyumova Y.A., Vokhmyanina N.V., Shlyaga S.V., Vavilova T.V., Simakova T.S., Zaytzeva M.A., Pavlov A.E. Development and application targeted NGS panels in the selective screening algorithm for inborn errors of metabolism. An experience of the St. Petersburg Medical and Genetic Center. *Medical genetics*. 2020; 19(7): 66-68. (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.66-68

Corresponding author: Churyumova Yuliya; **e-mail:** balinovs@mail.ru

Funding. The St. Petersburg Health Committee.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Наследственные болезни обмена (НБО) — группа редких генетических заболеваний, возникающими в результате ферментативных дефектов различных метаболических процессов, которые характеризуются широким клиническим разнообразием за счет вовлечения разных органов и систем органов человека. Ввиду сложности и многообразия патофизиологических механизмов и биохимических нарушений, клиническая картина данных заболеваний характеризуется крайне вариабельностью, в связи с чем, диагностика НБО представляет определенные трудности. В Санкт-Петербурге скрининг новорожденных включает два алгоритма лабораторного обследования — массовый и селективный. Массовый скрининг выполняется всем новорожденным детям и включает пять нозологий. Селективный скрининг проводится с использованием метода тандемной масс-спектрометрии (ТМС) для диагностики 4 групп наследственных болезней обмена (НБО): органических ацидурий, аминокислотопатий, дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот и лизосомных болезней накопления. Основанием для направления крови на селективный скрининг является наличие определенной клинической симптоматики и идентификация некоторых патогномичных лабораторных отклонений.

Однако помимо трудностей клинической диагностики НБО, обусловленных сложностью и вариабельностью симптомов, зачастую клиницисты сталкиваются с проблемой интерпретации результатов ТМС в связи с недостаточной специфичностью биохимических маркеров. Поэтому дальнейшая диагностика у детей с положительными результатами ТМС очень важна. С 2015 года в СПбГКУЗ МГЦ был разработан и внедрен алгоритм массового скрининга новорожденных с применением NGS в качестве теста второго уровня для подтверждающей диагностики моногенных НБО. В рамках данного алгоритма NGS используется для подтверждающей диагностики детей с положительными результатами скрининга. Таким образом, в биохимической лаборатории МГЦ проведено более 1000 исследований методом NGS.

Ввиду успешного опыта применения NGS в скрининге новорожденных, совместно со специалистами из ParseqLab (СПб, Россия) в 2019 г. сотрудниками биохимической лаборатории СПбГКУЗ МГЦ был разработан дизайн панелей для секвенирования NGS с последующим внедрением для диагностики заболеваний, тестируемых при селективном скрининге. В данной статье приведены промежуточные результаты этого исследования.

Материалы и методы

Исследование проводилось в выборке 84 детей с повышенными результатами селективного скрининга методом ТМС указанных заболеваний, либо у детей с клиническими симптомами НБО по направлению врача-генетика. NGS проводилось с использованием панелей генов для диагностики: аминокислотопатий — VariFind METAB (AA) assay (37 генов, 201 bp), дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот — FAO assay (20 генов) и органических ацидурий — AO assay (31 ген, 125 bp). Данные панели были разработаны для мультиплексного целевого ПЦР-обогащения всех экзонов выбранных генов и оценивались *in silico* до производства. Оценка *in vitro* была проведена на контрольных образцах сухих пятен крови NIST RM-8398, 1000G. Аналитические характеристики были рассчитаны во всех целевых регионах. Клинически значимые варианты были включены из базы данных ClinVar и <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Установлены аналитические показатели 3 панелей НБО: чувствительность — 95,5-100%, специфичность — 97,0-99,4%.

Результаты

В ходе исследования было выявлено 6 пациентов с двумя патогенными мутациями в генах: *MMACHC* (c.271dupA/c.547_549del), *MUT* (c.314G>A/c.314G>A), *GCDH* (c.1204C>T/c.670G>A), *ETFB* (c.655G>A/N), *ETFA* (c.882+54G>T/N), *BTBD* (c.100_104delinsC/c.100_104delinsC), *CBS* (p.(Arg379Gln)/p.(Glu144Gln)). У всех пациентов был подтвержден клинический диа-

гноз. Кроме того, у одного пациента были обнаружены две мутации в гене *MTHFR*: p.Glu470Val/p.Glu470Gln, которые встречаются в популяции с частотой 0,144% и по данным программ-предикторов патогенности являются патогенными. Также было выявлено 7 пациентов гетерозиготных носителей патогенных аллелей в генах *FAN*, *PRODH*, *HADHA*, *HADH*, *BTBD*. В 57 аллелях идентифицированы варианты с неизвестной клинической значимостью, из которых 33 находятся в интронных областях. В настоящее время клинический фенотип данных пациентов уточняется.

Промежуточные результаты данного исследования демонстрируют целесообразность применения NGS для диагностики нескольких групп НБО в клинической практике с наибольшей эффективностью при последовательном использовании биохимических и NGS тестов, что позволяет более правильно фокусировать молекулярно-генетическое исследование и существенно облегчить анализ полученных данных.

Литература

1. Байдакова Г.В., Антонен А.В., Голихина Т.А., Матулевич С.А., Амелина С.С., Куцев С.И. Ретроспективная диагностика наследственных болезней обмена методом тандемной масс-спектро-

метрии. Современные проблемы науки и образования 2013; 2. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=8953> (дата обращения: 05.04.2020)

2. Новиков П. В. Основные направления профилактики врожденных и наследственных болезней у детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2004; 15: 9.
3. Pampols T. Inherited metabolic rare disease. Adv. Exp. Med. Biol. 2010; 686:397–431.
4. Pourfarzam M., Zadhoush F. Newborn Screening for inherited metabolic disorders; news and views. J. Res. Med. Sci. 2013; 18(9):801–808.

References

1. Baydakova G.V., Antonets A.V., Golikhina T.A., Matulevich S.A., Amelin S.S., Kutsev S.I. Retrospektivnaya diagnostika nasledstvennykh bolezney obmena metodom tandemnoy mass-spektrometrii [Retrospective diagnosis of hereditary diseases of exchange by the method of tandem mass spectrometry]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education] 2013; 2. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=8953> (In Russ.)
2. Novikov P.V. Osnovnyye napravleniya profilaktiki vrozhdennykh i nasledstvennykh bolezney u detey [Main areas of prevention of congenital and hereditary diseases in children]. Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics] 2004; 15:9. (In Russ.)
3. Pampols T. Inherited metabolic rare disease. Adv. Exp. Med. Biol. 2010; 686:397–431.
4. Pourfarzam M., Zadhoush F. Newborn Screening for inherited metabolic disorders; news and views. J. Res. Med. Sci. 2013; 18(9):801–808.