

Целесообразность применения экзомного секвенирования для диагностики наследственных заболеваний

Окунева Е.Г.¹, Козина А.А.^{2,3}, Барышникова Н.В.^{1,2}, Красненко А.Ю.¹,
Климчук О.И.¹, Стеценко И.Ф.¹, Плотников Н.А.¹, Суркова Е.И.¹, Ильинский В.В.¹

1 — ООО Генотек

105120, г. Москва, Наставнический переулок, д. 17, корп. 1

2 — Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова

117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

3 — Институт биомедицинской химии

119121, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

Выявление генетической причины наследственного заболевания является необходимым этапом дифференциальной диагностики, играет важную роль при оценке генетического риска, а в ряде случаев также помогает определить метод и тактику лечения. Выбор метода молекулярно-генетического тестирования может представлять большую трудность в связи наличием целого ряда преимуществ и ограничений у каждого из подходов. Методы различаются по диагностической эффективности, времени и стоимости исследования, причем эти показатели могут значительно отличаться при диагностике разных групп генетических заболеваний. Использование неподходящего метода может существенно увеличить время и стоимость диагностики. В последнее время всё больше данных указывает на высокую эффективность одного из подходов секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) — экзомного секвенирования для выявления генетической причины некоторых групп наследственных заболеваний. Экзомное секвенирование позволяет получить информацию об изменениях в кодирующих белки областях генов — экзонах. Проведение трио экзомного секвенирования в семьях дополнительно увеличивает эффективность такого анализа. В статье приведено обоснование случаев клинической и финансовой целесообразности назначения экзомного секвенирования. К таким случаям относятся: редкие генетические заболевания, генетически гетерогенные заболевания у детей 0-3 лет, недавно установленная связь гена с заболеванием, тестирование после отрицательного результата других исследований, для пренатальной диагностики, по финансовым причинам.

Ключевые слова: экзомное секвенирование, WES, наследственные заболевания.

Для цитирования: Окунева Е.Г., Козина А.А., Барышникова Н.В., Красненко А.Ю., Климчук О.И., Стеценко И.Ф., Плотников Н.А., Суркова Е.И., Ильинский В.В. Целесообразность применения экзомного секвенирования для диагностики наследственных заболеваний. *Медицинская генетика* 2020; 19(12): 18-24.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.18-24

Автор для корреспонденции: Суркова Екатерина Ивановна; **e-mail:** esurkova@genotek.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Окунева Е.Г., Барышникова Н.В., Красненко А.Ю., Климчук О.И., Стеценко И.Ф., Плотников Н.А., Суркова Е.И. и Ильинский В.В. являются сотрудниками ООО Генотек. Авторы сообщают об отсутствии другого конфликта интересов.

Поступила: 10.10.2020.

The utility of exome sequencing in diagnosis of hereditary diseases

*Okuneva E.G.¹, Kozina A.A.^{2,3}, Baryshnikova N.V.^{1,2}, Krasnenko A.Yu.¹, Klimchuk O.I.¹,
Stetsenko I.F.¹, Plotnikov N.A.¹, Surkova E.I.¹, Ilinsky V.V.¹*

1 — Genotek Ltd.

Nastavnicheskii pereulok 17/1, Moscow, 105120, Russia

2 — Pirogov Russian National Research Medical University

Ostrovitianova str. 1, Moscow, 117997, Russia

3 — Institute of Biomedical Chemistry

Pogodinskaya str. 10 building 8, Moscow, 119121, Russia

Identification of the genetic cause of a hereditary disease is a necessary step in the differential diagnosis, because plays an important role in evaluation of genetic risk, and in some cases also helps to determine the method of treatment, for example, for some hereditary metabolic diseases. The subsequent choice of molecular genetic testing method can be very difficult due to the presence of a number of advantages and limitations for each of these approaches. Methods of molecular genetic testing in order to identify the genetic causes of a hereditary disease, first of all, differ in diagnostic efficiency, time and cost of the study. In addition, the characteristics of different methods can also vary significantly for different groups of genetic diseases. Using the wrong method can significantly increase the time and cost of diagnosis. Recently, several data indicate that one of the next generation sequenc-

ing (NGS) methods — exome sequencing — has high efficacy for identification of the genetic cause of certain groups of hereditary diseases. Exome sequencing provides information about changes in gene coding regions — exons. A trio exome sequencing in families further increases the effectiveness of such analysis. The article describes the examples of clinical and financial feasibility of exome sequencing to identify the genetic cause of a hereditary disease. Such cases include: rare genetic diseases, heterogeneous diseases in children 0-3 years old, recently established connection of a gene with a disease, testing after negative results of other studies, for prenatal diagnosis, for financial reasons.

Keywords: exome sequencing, WES, hereditary diseases.

For citation: Okuneva E.G., Kozina A.A., Baryshnikova N.V., Krasnenko A.Yu., Klimchuk O.I., Stetsenko I.F., Plotnikov N.A., Surkova E.I., Ilinsky V.V. The utility of exome sequencing in diagnosis of hereditary diseases. *Medical genetics* 2020; 19(12): 18-24. (In Rus.).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.18-24

Corresponding author: Surkova E.I.; **e-mail:** esurkova@genotek.ru

Funding. The study was carried out without sponsorship.

Conflict of interest. Okuneva E.G., Baryshnikova N.V., Krasnenko A.Yu., Klimchuk O.I., Stetsenko I.F., Plotnikov N.A., Surkova E.I., and Ilinsky V.V. are employed by Genotek Ltd. The authors declare that they have no other conflicts of interests.

Accepted: 10.10.2020.

В технологии секвенирования нового поколения (NGS, next generation sequencing) используются три подхода: секвенирование генома (whole genome sequencing, WGS), секвенирование экзома (whole exome sequencing, WES) и таргетное секвенирование (targeted sequencing). WGS раскрывает информацию о нуклеотидной последовательности всего генома. WES предполагает анализ большинства кодирующих областей генома — экзонов. Таргетные панели направлены на выявление изменений в наборе генов, связанных с конкретными заболеваниями или группой заболеваний человека. Каждый подход имеет свои преимущества и недостатки, прежде всего связанные со стоимостью и диагностической эффективностью анализа, которые в значительной мере различаются для различных групп наследственных заболеваний.

Экзомное секвенирование с 2009 г. активно применяется как в медицинских, так и в научно-исследовательских целях [1,2]. Главной задачей WES является выявление генетической причины наследственного заболевания у конкретного пациента. Важной задачей WES является также поиск новых генов, связанных с наследственными заболеваниями. В таких случаях проводят исследование больших семей с проявлением заболевания у представителей нескольких поколений или в больших когортах неродственных пациентов. Впервые WES было успешно применено для обнаружения гена *DHODH*, ответственного за развитие синдрома Миллера, причина которого до этого не была установлена [3]. Когортный анализ недавно помог выявить новые гены, вовлечённые в патогенез болезни Паркинсона [4, 5].

Во многих случаях стоимость анализа оказывается ключевым аспектом для выбора между таргетным секвенированием и WES. Для ряда групп наследственных заболеваний разработаны панели генов с высокой эф-

фективностью выявления генетической причины. Так, при поиске молекулярно-генетических причин дистрофий сетчатки диагностическая эффективность панели генов для выявления наследственных заболеваний глаз (HEDEP) составляет 41,2% [6]. Но во многих случаях диагностическая ценность WES превышает аналогичный показатель для таргетных панелей. Так, Dillon с соавт. установили причину заболевания с использованием WES у 145 детей с предполагаемым наследственным заболеванием. Они также показали, что использование таргетной панели генов в данном случае привело бы к тому, что у 23% детей диагноз не был бы установлен [7].

В определённых случаях таргетное секвенирование не позволяет установить причину заболевания, например, при редких или генетически гетерогенных болезнях. Назначение WES таким пациентам позволяет предотвратить диагностическую одиссею, в ряде случаев снижая итоговую стоимость обследования и сроки диагностики. Далее мы приводим примеры целесообразности назначения WES.

Редкие генетические заболевания

Согласно закону «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации» редким считают заболевание, распространённость которого не превышает 10 случаев на 100 тысяч человек. Такие заболевания редко встречаются в клинической практике врачей, что затрудняет постановку предварительного диагноза для назначения конкретной панели таргетного секвенирования. Кроме того, редкие заболевания в большинстве случаев являются недостаточно изученными. В связи с этим при проведении молекулярно-генетических исследований есть вероятность обнаружить новую взаимосвязь гена с заболеванием.

В рамках канадского проекта FORGE (Find Of Rare Disease GEnes, Поиск генов редких генетических заболеваний) было показано, что раннее назначение WES позволяет выявить причину редких генетических заболеваний в 12–44% семей с неустановленным диагнозом [8]. В среднем WES приводит к установлению диагноза в 30–50% случаев редких наследственных заболеваний с менделевским типом наследования [9].

Пример заболевания: синдром вялой кожи. Синдром вялой кожи относится к редким заболеваниям: распространённость оценивается как 1 случай на 1 000 000 новорождённых. Всего около 200 семей с этим заболеванием описано в мировой литературе. Синдром вялой кожи часто включает поражение органов кровеносной и дыхательной систем: дилатацию корня аорты, стеноз лёгочной артерии, эмфизему лёгких [10]. Но вовлечение внутренних органов происходит не всегда, поэтому аутосомно-доминантный синдром вялой кожи часто принимают за прогерию.

Гетерогенные заболевания у детей 0–3 лет

Для большинства наследственных заболеваний характерны клинический полиморфизм и генетическая гетерогенность. Под клиническим полиморфизмом понимают различия в проявлении заболевания, обусловленные характеристиками пациента (пол, возраст, этническая принадлежность, сопутствующие заболевания, наличие средовых, генетических модификаторов). Генетическая гетерогенность бывает двух типов: аллельная и локусная. Аллельная гетерогенность выражается в том, что мутации в одном гене приводят к развитию различных по тяжести клинических форм одного заболевания или разных по клиническим проявлениям заболеваний. Аллельная гетерогенность обусловлена локализацией, характером мутационных повреждений и их последствий: преждевременная остановка синтеза белка, нарушение альтернативного сплайсинга гена или процессинга белка и т.д. [11]. При локусной гетерогенности мутации в разных генах вызывают одно и то же заболевание [12]. Предполагается, что продукты этих генов являются функционально сходными, взаимодействующими друг с другом или участвующими в одних и тех же биологических процессах [13, 14]. Одним из примеров заболевания с локусной гетерогенностью может служить пигментный ретинит. Было выявлено более 45 генов, приводящих к развитию этого заболевания [15].

Для многих гетерогенных заболеваний есть разработанные диагностические панели генов. Например, Мониес с соавт. показали, что панель из 759 генов, ответственных за развитие различных форм поясно-ко-

нечностной мышечной дистрофии, позволила выявить генетическую причину у 76% семей. Средний возраст пробандов в данном исследовании составлял 10,6 лет [16]. Но при проявлении заболевания у ребёнка в возрасте от нескольких месяцев до 3-х лет клиническая картина может быть неполная. Особое значение отводится ранней диагностике кардиомиопатий, т.к. в этом случае установление генетической причины оказывает существенное влияние на качество и продолжительность жизни пациентов.

Недавний анализ, включающий 20 068 детей с предположенным наследственным заболеванием выявил, что диагностическая эффективность WES и WGS была близка, но существенно превышала аналогичный показатель, например, для хромосомного микроматричного анализа (diagnostic utility 0,36; 0,41 и 0,1) [17].

Пример заболевания: синдром Нунан. При синдроме Нунан у 90% пациентов наблюдается нарушение работы сердца (стеноз лёгочной артерии, гипертрофическая кардиомиопатия) [18], но диагностика этого заболевания основывается на наличии характерных фенотипических проявлений: низкий рост, дисморфизм лица, аномалии развития скелета. В связи с этим средний возраст постановки диагноза составляет 4,5 года. У маленьких детей не наблюдается полного проявления фенотипической картины синдрома Нунан, поэтому это заболевание часто не выявляется до появления фенотипических проявлений. Кроме того, синдром Нунан является генетически гетерогенным заболеванием: мутации в 11 генах приводят к развитию 12 основных типов синдрома Нунан.

Недавно установлена связь гена с заболеванием

Широкое применение в клинической практике методов секвенирования нового поколения привело к выявлению новых связей между генами и наследственными заболеваниями. Из-за недавнего установления связи мутаций в конкретном гене с развитием болезни еще не разработаны таргетные панели, которые включают эти новые гены, и/или не произведена оценка эффективности их применения. В таких случаях WES оказывается эффективным для выявления причины наследственного заболевания [19].

Пример заболевания: врождённое нарушение гликозилирования, тип Ip. Связь гена *ALG11* с развитием врождённого нарушения гликозилирования типа Ip была установлена в 2010 г. [25]. К настоящему времени описано всего 12 пациентов с мутациями в гене *ALG11* [20–25]. Из-за небольшого количества пациентов нет детального описания клинической картины

этого заболевания. Большинство симптомов врождённого нарушения гликозилирования типа I_r являются неспецифическими, например, задержка психо-моторного развития и эпилепсия. Несмотря на наличие характерных изменений лабораторных показателей крови (уровень дизиало-, тетраиало-, азиалотрансферрина), предположить это заболевание по клиническим проявлениям сложно.

Отрицательный результат других исследований

В ряде случаев врач, основываясь на клинической картине пациента, предполагает конкретное заболевание или группу заболеваний. Для некоторых генетических заболеваний есть лабораторные методы диагностики, например, энзимодиагностика для наследственных заболеваний обмена веществ. При подозрении на болезнь Фабри может быть проведено исследование активности альфа-галактозидазы у мужчин (у женщин такой анализ не показателен) или количественное определение глоботриаилсфингозина в крови [26].

Также пациенту может быть проведено прицельное исследование одного гена или таргетное секвенирование. Если результат нескольких исследований оказывается отрицательным, то для предотвращения дальнейшей длительной диагностической одиссеи, рекомендуется проведение WES.

Пренатальная диагностика

В зависимости от количества обнаруженных при УЗИ нарушений и их тяжести, вероятность выявления у плода с использованием цитогенетического анализа генетических аномалий составляет около 30% [27]. Применение WES позволяет установить генетическую причину аномалий развития в 38–40% таких случаев, т.е. на 8–10% больше. Если выявленные при УЗИ нарушения указывают на наличие конкретного генетического заболевания, то может быть проведено тестирование одного гена или генной панели. Но учитывая, что пренатальное выявление фенотипических отклонений является задачей сложной и зависящей от качества оборудования и квалификации специалиста, назначение WES в большинстве случаев является более оправданным [28].

Финансовая целесообразность

Помимо клинической целесообразности проведения WES можно привести еще примеры финансовой целесообразности назначения этого теста. Например,

большая протяжённость гена, мутация в котором является предполагаемой причиной наследственного заболевания. В таком случае возможно либо таргетное секвенирование, либо WES. Несмотря на то, что секвенирование по Сэнгеру является “золотым стандартом” генетических исследований, анализ одного длинного гена этим методом будет связан с большими финансовыми затратами для пациента.

Пример заболевания: Мутации в гене *FBN1* (фибриллин 1) приводят к развитию нескольких заболеваний с аутосомно-доминантным типом наследования: синдрому Марфана (OMIM 154700), акромической дисплазии (OMIM 102370), эктопии хрусталика 1 типа (OMIM 129600), гелеофизической дисплазии 2 типа (OMIM 614185), липодистрофии (OMIM 616914), MAAS синдрому (OMIM 604308), синдрому жёсткой кожи (OMIM 184900) и синдрому Вейля-Марчезани 2 типа (OMIM 608328). Ген *FBN1* состоит из 65 экзонов и имеет протяжённость 200 т.п.н.. Транскрипт мРНК имеет протяжённость 10kb, белковый продукт состоит из 2781 аминокислоты. К настоящему времени известно 1847 мутаций в этом гене (<http://www.umd.be/FBN1/>), приводящих к широкому спектру клинических фенотипов, варьирующих от отдельных признаков синдрома Марфана до неонатального поражения многих органов.

Дополнительную трудность в отношении гена *FBN1* представляет отсутствие так называемых “горячих точек” (hot spots) мутаций. Выявлены лишь некоторые закономерности. Например, акромическая и гелеофизическая дисплазии развиваются при наличии гетерозиготной мутации в экзоне 41 или 42 гена *FBN1*. Врождённая липодистрофия развивается при гетерозиготной мутации в экзоне 64 гена *FBN1*. У большинства пациентов с синдромом Марфана в результате мутаций происходит либо замещение цистеина на другую аминокислоту, либо замещение другой аминокислоты на цистеин в кальций-связывающих EGF-подобных доменах белка фибриллина 1 [29].

Несмотря на целесообразность проведения WES во многих случаях, это исследование не решает всех проблем диагностики наследственных заболеваний. Не для всех наследственных заболеваний известен ген, мутации в котором приводят к его развитию. Не все гены и не все типы мутаций хорошо детектируются даже современными методами секвенирования. Кроме того, важный вопрос состоит в том, следует ли проводить WES только пробанда или секвенирование трио (пробанд плюс родители) будет более целесообразным. Анализ трио позволяет определить патогенность ранее не описанных вариантов и значительно сокращает время постановки точного диагноза [30]. Кроме то-

го, проведение WES трио позволяет определить у родителей носительство патогенных мутаций, связанных с аутосомно-рецессивными заболеваниями и болезнями с поздним началом.

Заключение

В ряде случаев проведение WES позволяет выявить причину генетического заболевания с меньшими затратами времени и финансов по сравнению с другими методами молекулярно-генетического тестирования. Основными случаями для целесообразного назначения WES являются: подозрение на редкое генетическое заболевание, заболевание с недавно выявленным или длинным геном, предположении наличия гетерогенного заболевания у маленького ребёнка, при отрицательных результатах других методов диагностики. Проведение WES трио дополнительно увеличивает эффективность такого анализа. Выявление генетической причины заболевания позволяет определить тактику лечения, а также риск рождения ребёнка с аналогичным диагнозом в семье.

Литература

- Choi M., Scholl U.I., Ji W., Liu T., Tikhonova I.R., Zumbo P. et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2009; 106(45): 19096-19101. doi: 10.1073/pnas.0910672106.
- Ng S.B., Turner E.H., Robertson P.D., Flygare S.D., Bigham A.W., Lee C. et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature* 2009; 461(7261): 272-276. doi: 10.1038/nature08250.
- Ng S.B., Buckingham K.J., Lee C., Bigham A.W., Tabor H.K., Dent K.M. et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nature Genetics* 2010; 42(1): 30-35. doi: 10.1038/ng.499.
- Farlow J.L., Robak L.A., Hetrick K., Bowling K., Boerwinkle E., Coban-Akdemir Z.H. et al. Whole-Exome Sequencing in Familial Parkinson Disease. *JAMA Neurology* 2016; 73(1): 68-75. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.3266.
- Jansen I.E., Ye H., Heetveld S., Lechler M.C., Michels H., Seinstra R.I. et al. Discovery and functional prioritization of Parkinson's disease candidate genes from large-scale whole exome sequencing. *Genome Biology* 2017; 18(1): 22. doi: 10.1186/s13059-017-1147-9.
- Wang L., Zhang J., Chen N., Wang L., Zhang F., Ma Z. et al. Application of Whole Exome and Targeted Panel Sequencing in the Clinical Molecular Diagnosis of 319 Chinese Families with Inherited Retinal Dystrophy and Comparison Study. *Genes (Basel)* 2018; 9(7): E360. doi: 10.3390/genes9070360.
- Dillon O.J., Lunke S., Stark Z., Yeung A., Thorne N., Gaff C. et al. Exome sequencing has higher diagnostic yield compared to simulated disease-specific panels in children with suspected monogenic disorders. *Eur J Hum Genet* 2018; 26(5): 644-651. doi:10.1038/s41431-018-0099-1.
- Sawyer S.L., Hartley T., Dymont D.A., Beaulieu C.L., Schwartzentruber J., Smith A. et al. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clinical Genetics* 2016; 89(3): 275-284. doi: 10.1111/cge.12654.
- Clark M.M., Stark Z., Farnaes L., Tan T.Y., White S.M., Dimmock D. et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genomic Medicine* 2018; 3: 16. doi: 10.1038/s41525-018-0053-8.
- Rodriguez-Revenga L., Iranzo P., Badenas C., Puig S., Carrió A., Milà M. A novel elastin gene mutation resulting in an autosomal dominant form of cutis laxa. *Archives of Dermatology* 2004; 140(9): 1135-1139.
- Дадали Е.Л., Гинтер Е.К., Поляков А.В. Генетическая гетерогенность и некоторые другие проблемы, осложняющие диагностику наследственных болезней нервной системы. *Нервно-мышечные болезни* 2012; (1): 11-19.
- McClellan J., King M.C. Genetic heterogeneity in human disease. *Cell* 2010; 141(2): 210-217. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.032.
- Wang X., Wei X., Thijssen B., Das J., Lipkin S.M., Yu H. Three-dimensional reconstruction of protein networks provides insight into human genetic disease. *Nature Biotechnology* 2012; 30(2): 159-64. doi: 10.1038/nbt.2106.
- Guo Y., Wei X., Das J., Grimson A., Lipkin S.M., Clark A.G. et al. Dissecting disease inheritance modes in a three-dimensional protein network challenges the "guilt-by-association" principle. *American Journal of Human Genetics* 2013; 93(1): 78-89. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.05.022.
- Hartong D.T., Berson E.L., Dryja T.P. Retinitis pigmentosa. *Lancet* 2006; 368(9549):1795-809.
- Monies D., Alhindi H.N., Almuhaizea M.A., Abouelhoda M., Alazami A.M., Goljan E. et al. A first-line diagnostic assay for limb-girdle muscular dystrophy and other myopathies. *Human Genomics* 2016; 10(1): 32.
- Clark M.M., Stark Z., Farnaes L., Tan T.Y., White S.M., Dimmock D. et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genomic Medicine* 2018; 3: 16. doi: 10.1038/s41525-018-0053-8.
- Hickey E.J., Mehta R., Elmi M., Asoh K., McCrindle B.W., Williams W.G. et al. Survival implications: hypertrophic cardiomyopathy in Noonan syndrome. *Congenital Heart Disease* 2011; 6(1): 41-47. doi: 10.1111/j.1747-0803.2010.00465.x.
- Waldrop M.A., Pastore M., Schrader R., Sites E., Bartholomew D., Tsao C.Y. et al. Diagnostic Utility of Whole Exome Sequencing in the Neuromuscular Clinic. *Neuropediatrics* 2019; 50(2): 96-102. doi: 10.1055/s-0039-1677734.
- Thiel C., Rind N., Popovici D., Hoffmann G.F., Hanson K., Conway R.L. et al. Improved diagnostics lead to identification of three new patients with congenital disorder of glycosylation-Ip. *Hum Mutat* 2012; 33(3): 485-487. doi:10.1002/humu.22019.
- Rind N., Schmeiser V., Thiel C., Absmanner B., Lübbehusen J., Hocks J. et al. A severe human metabolic disease caused by deficiency of the endoplasmic mannosyltransferase hALG11 leads to congenital disorder of glycosylation-Ip. *Human Molecular Genetics* 2010; 19(8): 1413-1424. doi: 10.1093/hmg/ddq016.
- Al Teneiji A., Bruun T.U., Sidky S., Cordeiro D., Cohn R.D., Mendoza-Londono R. et al. Phenotypic and genotypic spectrum of congenital disorders of glycosylation type I and type II. *Molecular Genetics and Metabolism* 2017; 120(3): 235-242. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.12.014.
- Pereira A.G., Bahi-Buisson N., Barnerias C., Boddaert N., Nabbout R., de Lonlay P. et al. Epileptic spasms in congenital disorders of glycosylation. *Epileptic Disorders* 2017; 19(1): 15-23. doi: 10.1684/epd.2017.0901.
- Regal L., van Hasselt P.M., Foulquier F., Cuppen I., Prinsen H., Jansen K. et al. ALG11-CDG: Three novel mutations and further characterization of the phenotype. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* 2014; 2: 16-19. doi: 10.1016/j.ymgmr.2014.11.006.

25. Haanpää M.K., Ng B.G., Gallant N.M., Singh K.E., Brown C., Kimonis V. et al. ALG11-CDG syndrome: Expanding the phenotype. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2019; 179(3): 498-502. doi: 10.1002/ajmg.a.61046.
26. Ortiz A., Germain D.P., Desnick R.J., Politei J., Mauer M., Burlina A. et al. Fabry disease revisited: Management and treatment recommendations for adult patients. *Molecular Genetics and Metabolism* 2018; 123(4): 416-427.
27. Zhang S., Lei C., Wu J., Sun H., Yang Y., Zhang Y. et al. A retrospective study of cytogenetic results from amniotic fluid in 5328 fetuses with abnormal obstetric sonographic findings. *Journal of Ultrasound Medicine* 2017; 36(9): 1809-1817. doi: 10.1002/jum.14215.
28. Monaghan K.G., Leach N.T., Pekarek D., Prasad P., Rose N.C.; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* 2020. doi: 10.1038/s41436-019-0731-7.
29. Sakai L.Y., Keene D.R., Renard M., De Backer J. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. *Gene* 2016; 591(1): 279-291. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.033.
30. Tran Mau-Them F., Moutton S., Racine C., Vitobello A., Bruel A.L., Nambot S. et al. Second-tier trio exome sequencing after negative solo clinical exome sequencing: an efficient strategy to increase diagnostic yield and decipher molecular bases in undiagnosed developmental disorders. *Hum Genet* 2020. doi:10.1007/s00439-020-02178-8.
1. Choi M., Scholl U.I., Ji W., Liu T., Tikhonova I.R., Zumbo P. et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2009; 106(45): 19096-19101. doi: 10.1073/pnas.0910672106.
2. Ng S.B., Turner E.H., Robertson P.D., Flygare S.D., Bigham A.W., Lee C. et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature* 2009; 461(7261): 272-276. doi: 10.1038/nature08250.
3. Ng S.B., Buckingham K.J., Lee C., Bigham A.W., Tabor H.K., Dent K.M. et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nature Genetics* 2010; 42(1): 30-35. doi: 10.1038/ng.499.
4. Farlow J.L., Robak L.A., Hetrick K., Bowling K., Boerwinkle E., Coban-Akdemir Z.H. et al. Whole-Exome Sequencing in Familial Parkinson Disease. *JAMA Neurology* 2016; 73(1): 68-75. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.3266.
5. Jansen I.E., Ye H., Heetveld S., Lechler M.C., Michels H., Seinstra R.I. et al. Discovery and functional prioritization of Parkinson's disease candidate genes from large-scale whole exome sequencing. *Genome Biology* 2017; 18(1): 22. doi: 10.1186/s13059-017-1147-9.
6. Wang L., Zhang J., Chen N., Wang L., Zhang F., Ma Z. et al. Application of Whole Exome and Targeted Panel Sequencing in the Clinical Molecular Diagnosis of 319 Chinese Families with Inherited Retinal Dystrophy and Comparison Study. *Genes (Basel)* 2018; 9(7): E360. doi: 10.3390/genes9070360.
7. Dillon O.J., Lunke S., Stark Z., Yeung A., Thorne N., Gaff C. et al. Exome sequencing has higher diagnostic yield compared to simulated disease-specific panels in children with suspected monogenic disorders. *Eur J Hum Genet* 2018; 26(5): 644-651. doi:10.1038/s41431-018-0099-1.
8. Sawyer S.L., Hartley T., Dymont D.A., Beaulieu C.L., Schwartzentruber J., Smith A. et al. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clinical Genetics* 2016; 89(3): 275-284. doi: 10.1111/cge.12654.
9. Clark M.M., Stark Z., Farnaes L., Tan T.Y., White S.M., Dimmock D. et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genomic Medicine* 2018; 3: 16. doi: 10.1038/s41525-018-0053-8.
10. Rodriguez-Revena L., Iranzo P., Badenas C., Puig S., Carrió A., Milà M. A novel elastin gene mutation resulting in an autosomal dominant form of cutis laxa. *Archives of Dermatology* 2004; 140(9): 1135-1139.
11. Dadali E.L., Ginter E.K., Poljakov A.V. Geneticheskaja geterogenost' i nekotorye drugie problemy, oslozhnjajushhie diagnostiku nasledstvennyh boleznej nervnoj sistemy. [Genetic heterogeneity and some other problems that complicate the diagnosis of hereditary diseases]. *Nervno-myshechnye bolezni [Neuromuscular diseases]* 2012; (1): 11-19. (In Russ.).
12. McClellan J., King M.C. Genetic heterogeneity in human disease. *Cell* 2010; 141(2): 210-217. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.032.
13. Wang X., Wei X., Thijssen B., Das J., Lipkin S.M., Yu H. Three-dimensional reconstruction of protein networks provides insight into human genetic disease. *Nature Biotechnology* 2012; 30(2): 159-64. doi: 10.1038/nbt.2106.
14. Guo Y., Wei X., Das J., Grimson A., Lipkin S.M., Clark A.G. et al. Dissecting disease inheritance modes in a three-dimensional protein network challenges the "guilt-by-association" principle. *American Journal of Human Genetics* 2013; 93(1): 78-89. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.05.022.
15. Hartong D.T., Berson E.L., Dryja T.P. Retinitis pigmentosa. *Lancet* 2006; 368(9549):1795-809.
16. Monies D., Alhindi H.N., Almuhaizea M.A., Abouelhoda M., Alazami A.M., Goljan E. et al. A first-line diagnostic assay for limb-girdle muscular dystrophy and other myopathies. *Human Genomics* 2016; 10(1): 32.
17. Clark M.M., Stark Z., Farnaes L., Tan T.Y., White S.M., Dimmock D. et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genomic Medicine* 2018; 3: 16. doi: 10.1038/s41525-018-0053-8.
18. Hickey E.J., Mehta R., Elmi M., Asoh K., McCrindle B.W., Williams W.G. et al. Survival implications: hypertrophic cardiomyopathy in Noonan syndrome. *Congenital Heart Disease* 2011; 6(1): 41-47. doi: 10.1111/j.1747-0803.2010.00465.x.
19. Waldrop M.A., Pastore M., Schrader R., Sites E., Bartholomew D., Tsao C.Y. et al. Diagnostic Utility of Whole Exome Sequencing in the Neuromuscular Clinic. *Neuropediatrics* 2019; 50(2): 96-102. doi: 10.1055/s-0039-1677734.
20. Thiel C., Rind N., Popovici D., Hoffmann G.F., Hanson K., Conway R.L. et al. Improved diagnostics lead to identification of three new patients with congenital disorder of glycosylation-Ip. *Hum Mutat* 2012; 33(3): 485-487. doi:10.1002/humu.22019.
21. Rind N., Schmeiser V., Thiel C., Absmanner B., Lübbehusen J., Hocks J. et al. A severe human metabolic disease caused by deficiency of the endoplasmic mannosyltransferase hALG11 leads to congenital disorder of glycosylation-Ip. *Human Molecular Genetics* 2010; 19(8): 1413-1424. doi: 10.1093/hmg/ddq016.
22. Al Teneji A., Bruun T.U., Sidky S., Cordeiro D., Cohn R.D., Mendoza-Londono R. et al. Phenotypic and genotypic spectrum of congenital disorders of glycosylation type I and type II. *Molecular Genetics and Metabolism* 2017; 120(3): 235-242. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.12.014.
23. Pereira A.G., Bahi-Buisson N., Barnerias C., Boddaert N., Nabbout R., de Lonlay P. et al. Epileptic spasms in congenital disorders of glycosylation. *Epileptic Disorders* 2017; 19(1): 15-23. doi: 10.1684/epd.2017.0901.

24. Regal L., van Hasselt P.M., Foulquier F., Cuppen I., Prinsen H., Jansen K. et al. ALG11-CDG: Three novel mutations and further characterization of the phenotype. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* 2014; 2: 16-19. doi: 10.1016/j.ymgmr.2014.11.006.
25. Haanpää M.K., Ng B.G., Gallant N.M., Singh K.E., Brown C., Kimonis V. et al. ALG11-CDG syndrome: Expanding the phenotype. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2019; 179(3): 498-502. doi: 10.1002/ajmg.a.61046.
26. Ortiz A., Germain D.P., Desnick R.J., Politei J., Mauer M., Burlina A. et al. Fabry disease revisited: Management and treatment recommendations for adult patients. *Molecular Genetics and Metabolism* 2018; 123(4): 416-427.
27. Zhang S., Lei C., Wu J., Sun H., Yang Y., Zhang Y. et al. A retrospective study of cytogenetic results from amniotic fluid in 5328 fetuses with abnormal obstetric sonographic findings. *Journal of Ultrasound Medicine* 2017; 36(9): 1809-1817. doi: 10.1002/jum.14215.
28. Monaghan K.G., Leach N.T., Pekarek D., Prasad P., Rose N.C.; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* 2020. doi: 10.1038/s41436-019-0731-7.
29. Sakai L.Y., Keene D.R., Renard M., De Backer J. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. *Gene* 2016; 591(1): 279-291. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.033.
30. Tran Mau-Them F., Moutton S., Racine C., Vitobello A., Bruel A.L., Nambot S. et al. Second-tier trio exome sequencing after negative solo clinical exome sequencing: an efficient strategy to increase diagnostic yield and decipher molecular bases in undiagnosed developmental disorders. *Hum Genet* 2020. doi:10.1007/s00439-020-02178-8.