

Exomové sekvenování jako účinný nástroj pro identifikaci molekulární podstaty vzácných dětských onemocnění.

Lenka Nosková¹, Viktor Stránecký¹, Markéta Tesařová², Hana Hartmannová¹, Kateřina Hodaňová¹, Helena Trešlová¹, Marie Zikánová¹, Tomáš Honzík², Martin Magner², Jiří Zeman², Eva Hrubá², Helena Jahnová², Alice Baxová³, Andrea Gřegořová⁴, Dagmar Grečmalová⁴, Andrea Hladíková⁴, Markéta Mohler⁴, Jana Šaligová⁵, Ludmila Potočňáková⁵, Mária Giertlová⁶, Katarína Brennerová⁷, Stanislav Kmoch¹

¹Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1.LF UK a VFN; ²Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1.LF UK a VFN; ³Ústav biologie a lékařské genetiky 1.LF UK a VFN; ⁴Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Ostrava; ⁵Detská fakultní nemocnica Košice; ⁶Oddělení lékařské genetiky, Unilabs Slovensko s.r.o.; ⁷Detská klinika LF UK a NÚDCH Bratislava

Úvod: Vzácná onemocnění jsou klinicky heterogenní skupinou onemocnění, projevující se nejčastěji v dětském věku. V současnosti je jejich diagnostika zaměřena na cytogenetická a biochemická vyšetření a cílené sekvenování omezeného počtu kandidátních genů. Exomové sekvenování přináší především možnost komplexní analýzy všech známých kódujících oblastí genomu.

Cíle: Projekt si klade za cíl určit molekulárně genetickou diagnózu u souboru pediatrických pacientů, u kterých dosavadní genetická vyšetření nevedla k uzavření diagnózy a umožnit cílenou DNA diagnostiku, kvalifikované genetické poradenství a prevenci v rodinách.

Metodika: Exomové sekvenování bylo prováděno vždy u probanda i obou rodičů. Data byla filtrována na základě frekvence variant ve veřejně dostupných databázích a dále na základě předpokládaného typu dědičnosti, biologické relevance a literárních údajů. Informace o kandidátních variantách byly následně porovnávány s klinickými údaji o pacientovi, případně byla provedena segregáční analýza a další funkční vyšetření. U kandidátních variant s nejasnou kauzalitou se pokračuje s funkční charakterizací dopadu nalezených variant na úrovni RNA a proteinových analýz a buněčných modelů.

Výsledky: Provedli jsme exomové analýzy u > 400 rodin pacientů vzácným onemocněním. U 42 % těchto případů se podařilo prokázat kauzalitu příslušné varianty, u 6 % případů jsme definovali kandidátní varianty, které jsou dále charakterizovány. Výsledky získané z tohoto souboru pacientů ukazují, že jednotlivé diagnózy jsou ve většině případů unikátní a velmi vzácné. K uzavření diagnózy často vede opakovaná reanalýza dat ve světle nových vědeckých poznatků. U dvanácti případů se nám díky exomovému sekvenování podařilo popsat nové kauzální geny pro dané fenotypy a iniciovat tak další výzkum patofyziologie onemocnění.

Závěr: Vzhledem k diagnostické úspěšnosti by měly být exomové analýzy zvažovány jako metoda první volby v případech onemocnění s nespecifickými fenotypovými projevy.

NV19-07-00136, NV19-08-00137, LM2018132, LX22NPO5107