

Betegadatok

Név:

Születési dátum:

Lakcím:

Édesanyja neve:

TAJ:

Megrendelés száma:

Vizsgálat: Teljes exom szekvenálás – singleton

Megrendelésszám	Mintaazonosító	Minta típusa	Mintaérkezés dátuma
101010100	SMP-1	EDTA-s vér	2025.01.01

Klinikai indikáció: A proband két éve rendszeres mellkasi fájdalmat és szívdobogásérzést tapasztal, különösen fizikai megterhelés során (pl. futás, lépcsőzés). Az utóbbi félévben a tünetek súlyosbodtak: Gyakori szédülés és ájulásérzés, főleg edzés közben. Légszomj terhelésre, néha nyugalomban is. Időnként szabálytalan szívverés érzése. Fokozott fáradékonyság, csökkent terhelhetőség. A család több generáción keresztül szívproblémákkal terhelt, több közeli hozzátartozónál is diagnosztizáltak vagy feltételezhető a hypertrophiás cardiomyopathia (HCM) jelenléte. Apai nagyapa ismeretlen okból bekövetkező hirtelen szívhalál otthonában. Korábban fáradékonyságról és mellkasi fájdalomról panaszkodott, de nem került kivizsgálásra. Édesapa hirtelen szívhalál lépcsőzés közben. Soha nem végeztek nála szívvizsgálatot, de korábban gyakori mellkasi fájdalomról és terhelési nehézségekről panaszkodott. Édesanya nincs ismert szívbetegsége, de genetikai vizsgálat nem történt. Bátyja HCM diagnózis 42 éves korában. EKG-n bal kamrai hipertrófia, extraszisztolék észlelhetők, de egyelőre stabil állapotú. Béta-blokkoló terápiát kap. Nővére enyhe bal kamrai hipertrófia és nem tartós kamrai tachycardia (NSVT) epizódok. Fáradékonysága miatt kardiológiai kontroll alatt áll. A proband gyermekei (17 és 14 éves) egyelőre tünetmentesek.

Eredmények összefoglalása:

A rendelkezésre álló fenotípusos adatok ismeretében a beteg tüneteinek hátterében a *MYH7* génben a NM_000257.4:c.3158G>A, p.(Arg1053Gln) patogén variánst találtuk.

Másodlagos, incidentális, illetve mitokondriális eltérés nem igazolódott.

Eredmények magyarázata:

A *MYH7* gén (OMIM: 160760) autoszomális dominánsan öröklődő dilatatív kardiomiopátia 1S típus (OMIM: 613426); hipertrófiás kardiomiopátia 1-es típus (OMIM: 192600); miozin-raktározási myopathia (OMIM: 608358, congenital myopathy 7A); Laing-féle disztális myopathia (OMIM: 160500); bal kamrai nem-kompakt 5-ös típus (OMIM: 613426); valamint autoszomális recesszíven öröklődő miozin-raktározási myopathia (OMIM: 255160, congenital myopathy 7B) betegséggel hozható összefüggésbe.

Eredmények klinikai jelentősége:

Gyermekvállalás esetén a vizsgált egyén gyermekei nemtől függetlenül 50% eséllyel örökölhetik a mutációt.

Genetikai tanácsadáson való részvétel, illetve a családtagok vizsgálata javasolt a fent jelzett génben azonosított variánsra.

1. FÜGGELÉK VARIÁNSOK ADATAI

Gén	Zigótaság	Öröklés	HGVS státusz	Lokalizáció	Variánst támogató read-ek száma	Read szám	Osztályozás
MYH7	Heterozigóta	Domináns	NM_000257.4:c.3158G>A NP_000248.2: p.R1053Q	14:23,891,476	94	186	Patogén

A genomiális variánsokat az American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) ajánlásán alapuló Association for Clinical Genomic Science (ACGS) 2024 útmutatása (Durkie et al 2024 <https://www.acgs.uk.com/media/12533/uk-practice-guidelines-for-variant-classification-v12-2024.pdf>), míg a mitokondriális variánsokat a ACMG/AMP 2020 útmutatása (McCormick et al. 2020, PMID: 32906214) alapján osztályoztuk.

Az MYH7 gén a β -miozin nehézlánc (β -MHC) fehérjét kódolja, amely a szívizom és a vázizom lassú rostjainak egyik fő motorfehérjéje. Ez a fehérje az aktin filamentumokhoz kötődve ATP hidrolízise révén biztosítja az izomösszehúzódnáshoz szükséges mechanikai erőt és mozgást.

Az NM_000257.4:c.3158G>A, p.(Arg1053Gln) variáns nem szerepel sem a gnomAD 2.1.1-es, sem az 1kg Phase 3 adatbázisban (PM2_moderate).

Missense variáns egy olyan génben, melyben a benignus missense variánsok száma alacsony és a missense variánsok gyakran okoznak betegséget (Z-score: 6,79) (PP2_supporting)

Számos *in silico* predikciós szoftver alátámasztja, hogy a variáns konzervált pozícióban helyezkedik el, és az aminosavcsere a funkció szempontjából jelentős lehet (MSA-SIFT: 1,00; MSA-PolyPhen2: 1,000; PhyloP: 7,47; GERP++:18,67; CADD: 33; REVEL: 0,93; AlphaMissense: 0,807) (PP3_supporting).

A beteg fenotípusa vagy családi anamnézise nagyon specifikus a betegségre (PP4_supporting)

Számos esetet leírtak (PMID: 15556047; 27532257), ahol egymástól független családok tagjaiban az azonosított variáns koszegregált a betegséggel (PP1_strong).

Az érintett egyéneknél a variáns prevalenciája magasabb, mint az egészséges kontrollokban (OR:12.0 (10.9–13.3); PMID:27532257) (PMID: 15556047; 24888384; 27532257). A ClinVarban 9 eset kapcsán jelentették, mint patogén és 2 eset kapcsán, mint valószínűleg patogén eltérést. (ClinVar ID: 155814) (PS4_strong)

A variáns interpretáció multidiszciplináris megbeszélés keretén belül történt.

2. FÜGGELÉK TECHNIKAI INFORMÁCIÓK

Módszer leírása

Laboratóriumi analízis

A beküldött biológiai mintából a nukleinsav izolálás az Omega Biotek Mag-Bind® Blood & Tissue DNA HDQ 96 Kit használatával történt. Ezt követően a DNS koncentrációját ThermoFisher Qubit 4.0 készüléken, a fragmentáltságát pedig Agilent TapeStation 4200 készüléken határoztuk meg. A megfelelő minőségű DNS mintákból rövid leolvasási szekvenálásra alkalmas könyvtár készült az xGen DNA Library Prep Kit EZ reagensek alkalmazásával, valamint az xGen hibridizációs próbákkal történő dúsítással. Az előkészített nukleinsav könyvtárak minőségi ellenőrzésen és átlagos fragmenthossz meghatározáson estek át, amit a szekvenálás követett az Illumina NovaSeq X Plus platformon 2x150 bázispár leolvasással és átlagos 150X lefedettséggel a vizsgált régióra

Bioinformatikai analízis:

Nukleáris genom:

A nyers szekvenálási adatok generálása, beleértve a bázisok hívását és a minták szétválogatása a bcl2fastq (v2.20.0.422) program felhasználásával történt.

Az egy nukleotid variánsok (SNV) és a kis (50 bázispárnál rövidebb) inszerciók és deléciók (INDEL) egy egyedi fejlesztésű adatelemzési munkafolyamat segítségével lettek azonosítva. Első lépésként a nyers adatok minőségellenőrzését végeztük el a FastQC (v0.11.9) programmal. Az adapter és a rossz minőségű bázisok, szekvenciák eltávolítása fastp-vel (v0.21.0) történt. A szűrt, magas minőségű szekvenciákat a humán referencia genomhoz (hg19/GRCh37) illesztettük a bwa mem algoritmus (v0.7.17) alkalmazásával. A BAM fájl módosítások (sorba rendezés, szekvencia metaadat hozzáadása, index generálás, duplikátumok eltávolítása) a Picard Tools programcsomag (v2.23.3) alparancsaival történtek. A térképezési statisztikákat a Picard Tools és a Qualimap (v2.2.1) szoftverek felhasználásával számítottuk ki. A variánsok azonosítása előtt a bázis minőségi értékeket a GATK BSQR modul (v4.5.0.0) kalibráltuk újra, az ismert mutációkat tartalmazó dbSNP155 adatbázis felhasználásával. A variánshívást és a szűrést különböző GATK modulok segítségével végeztük el a célgének és régiók genomi koordinátáit tartalmazó fájl alapján. Technikai szempontból az Illumina új-generációs szekvenálás szenzitivitása 99,9%.

Mitokondriális genom:

Az egy nukleotid variánsok (SNV) és a kis (50 bázispárnál rövidebb) inszerciók és deléciók (INDEL) egy egyedi, kifejezetten a mitokondriális genomban található variánsok detektálására fejlesztett adatelemzési munkafolyamat segítségével lettek azonosítva. Első lépésként a nyers adatok minőségellenőrzést végeztük el a FastQC (v0.11.9) programmal. Az adapter és a rossz minőségű bázisok, szekvenciák eltávolítása fastp-vel (v0.21.0) történt. A szűrt, magas minőségű szekvenciákat a humán mitokondriális referencia genomhoz (NCBI referencia szekvencia: NC_012920.1) illesztettük a bwa mem algoritmus (v0.7.17) alkalmazásával mitokondrium specifikus paramétereket alkalmazva. A BAM fájl módosítások (sorba rendezés, szekvencia metaadat hozzáadása, index generálás, duplikátumok eltávolítása) a Picard Tools programcsomag (v2.23.3) alparancsaival történt. A térképezési statisztikákat a Picard Tools és a Qualimap (v2.2.1) szoftverek felhasználásával számítottuk ki. A variánsok azonosítását a GATK Mutect2 (v4.5.0.0) alprogrammal végeztük el a teljes mitokondriális genomra, mitokondriális genomra specifikus paraméterek alkalmazásával (--mitochondria-mode). A prediktált variánsok szűrését a GATK FilterMutectCalls modul felhasználásával végeztük el. Technikai szempontból az Illumina új-generációs szekvenálás szenzitivitása 99,9%.

Limitációk:

Az újgenerációs szekvenálás korlátozottan alkalmas a genomiális variánsok azonosítására mind a GC-gazdag és ismétlődő nukleotidokat (7 bázisnál hosszabb homopolimer szekvenciák, pl. TTTTTTTT) tartalmazó szegmenseiben, mind pedig a genom más régióival nagy homológiát mutató szegmenseiben (szegmentális duplikációk vagy pszeudogének). A szekvenáláson alapuló technológiák a gének bázisrendjének kiolvasására, illetve a DNS-bázisokat érintő mutációk azonosítására használhatók. A vizsgálat nem tette lehetővé az aneuploidia, hosszú ismétlődő szekvenciák, repeat expanziók, kromoszóma-átrendeződések, mély intronikus variánsok (több mint 20 bázispár távolságra az exontól), mozaicizmus és epigenetikai változások kimutatását, valamint a promóter és enhancer régiókat, nem kódoló exonokat és más nem kódoló régiókat érintő variánsok azonosítását. A variáns fázisának meghatározása, csak a biológia szülőik vizsgálatának bevonásával lehetséges. A mitokondriális genomban jelenlévő kóroki variánsok detektálási limitjét (LOD), és az ezzel összefüggésben álló hetero-, és homoplazmia arányok mennyiségi meghatározását befolyásolhatta a mintavétel szövete és azon belül is a pontos helye (p, vér, szájnyálkahártya kaparék, izomszövet stb.). A mitokondriális variánsok esetében a LOD egy dinamikusan változó érték az adott régió lefedettségének függvényében. A vizsgálat során nagyon ritkán, de hibák keletkezhetnek, amelyek eredhetnek a minta kontaminációjából, technikai hibákból, ritka genetikai variánsokból, amelyek zavarhatják az elemzést és kiértékelést.

Variáns interpretáció:

A variánsok annotációjához, klinikai jelentőségének vizsgálatához és szűréséhez VarSeq 2.6.2 szoftvert (Golden Helix, USA) használtuk. A szűrés többek között a RefSeq, gnomAD, dbSNP, NHLBI, ClinVar, OMIM aktuális verziójú adatbázisának és az in silico patogénitáse-előrejelző (Polyphen-2, SIFT, PhyloP, GERP++, CADD, REVEL, Splice AI, MitoTIP, HmtVar, APOGEE2) segítségével, valamint a kiértékelés napján rendelkezésre álló tudományos szakirodalom áttekintésével történt. A genomiális variánsokat az American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) ajánlásán alapuló Association for Clinical Genomic Science (ACGS) 2024 útmutatása (Durkie et al 2024 <https://www.acgs.uk.com/media/12533/uk-practice-guidelines-for-variant-classification-v12-2024.pdf>), míg a mitokondriális variánsokat az ACMG/AMP 2020 útmutatása alapján (McCormick et al. 2020, PMID: 32906214) osztályoztuk. Ha a vizsgálat során nem került azonosításra ismert valószínűleg patogén vagy patogén eltérést, ez még nem zárja ki genetikai betegség fennálltának lehetőségét. Az azonosított variánsokat a konszenzuson alapuló Human Genome Variation Society (HGVS) nomenklatúrával, pontos kromoszóma pozícióval, zsigótasággal, öröklődési mechanizmussal, a variánst támogató/a teljes read számmal és a manuális interpretáción alapuló klasszifikációval együtt tüntetjük fel az eredményközlőben. Az eredményközlőben feltüntetésre kerülnek a fenotípussal asszociálódó elsődleges, illetve a vizsgáló személy/törvényes képviselő bejegyzése esetén, a másodlagos és incidentális találatok. Elsődleges találat: A vizsgálat klinikai indikációjával összefüggésbe hozható patogén és valószínű patogén, vagy ismeretlen jelentőségű (VUS) variáns. Másodlagos találat: A vizsgálat klinikai indikációjától és applikációjától független, de klinikailag releváns patogén vagy valószínűleg patogén variáns, ami szerepel az American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) által publikált, aktuális verziójú „ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings (SF) in Clinical Exome and Genome Sequencing” dokumentumban. Ezen gének variánsait aktívan keressük és riportáljuk az eredményközlőben. Incidentális találat: A vizsgálat klinikai indikációjával összefüggésbe nem hozható, de klinikailag releváns patogén vagy valószínűleg patogén variáns, ami nem szerepel az ACMG SF aktuális listáján. Ezen gének variánsait aktívan nem keressük, azonban pozitív találat esetén, csak megalapozott szakirodalmi háttér alapján riportáljuk az eredményközlőben. Az eredményközlőben szintén feltüntetésre kerülnek a fenotípussal asszociálódó releváns patogén mitokondriális variáns(ok). Ezen variánsok a MitoMap adatbázisban regisztráltak és megerősített adatok alapján kerülnek azonosításra.

Célrégió:

Teljes exom szekvenálás

Génlista:

-



Minőségi jellemzők:

Nukleáris genom:

A célrégio átlagos lefedettsége: 236x

20x lefedettség a teljes célrégióra vonatkoztatva: 98,41%

Mitokondriális genom:

A célrégio átlagos lefedettsége: 214x

20x lefedettség a teljes célrégióra vonatkoztatva: 99,99%

Validálás dátuma:

.....
Validáló

Figyelmeztetés

Ez az eredményközlő anyag fiktív. Minden benne szereplő adat, személy, esemény vagy összefüggés kizárólag illusztrációs célokat szolgál. Amennyiben bármilyen hasonlóság mutatkozik valós személyekkel vagy eseményekkel, az csupán a véletlen műve.

