

<b>Patient ID #</b>	XXX, XX männlich (*TT.MM.JJJJ)
<b>Probeneingang</b>	xxx
<b>Material</b>	DNA
<b>Externe ID</b>	#
<b>Befunddatum</b>	xxx
<b>Befund-ID</b>	R#

## Molekulargenetischer Befund – XXX, XX (\*TT.MM.JJJJ)

**Auftrag** ACMG *in silico* Panel für Minderjährige

### Ergebnis: Auffälliger Befund

- **Nachweis einer pathogenen Variante im Gen *LDLR*, die zu einer familiären Hypercholesterinämie führen kann.**

Gen	Variante	Zygotie	Erbgang	MAF (%)	Bewertung
<b><i>LDLR</i></b>	<b>c.185_186insT; p.Cys63Valfs*67</b> chr19:11211016 C>CT (hg19)	het.	AD, AR	-	pathogen

Informationen zur Interpretation dieser Tabelle können im Abschnitt *Ergänzende Informationen* eingesehen werden.

### Empfehlung

Wir empfehlen eine weiterführende klinische Diagnostik und Versorgung entsprechend dem aktuellen Protokoll für eine familiäre Hypercholesterinämie (Ison et al., aktualisiert 2022, PMID: 24404629, GeneReviews).

### Humangenetische Relevanz

Der Patient ist heterozygoter Träger einer pathogenen Variante im Gen *LDLR*, die für die Familienplanung und auch für Verwandte relevant sein können.

Wir weisen darauf hin, dass formalgenetisch jede Variante mit einer Wahrscheinlichkeit von jeweils 50 % weitervererbt werden kann.

## Klinische Information und Varianten-Interpretation

### LDLR, NM\_000527.4

OMIM / Referenz	Phänotyp	Erbgang
143890	Familiäre Hypercholesterinämie 1 (FHCL1)	AD, AR
143890	LDL-Cholesterinspiegel QTL2 (LDLCQ2)	AD, AR

Das Gen **LDLR** kodiert für ein LDL-Rezeptor-Protein, das für die Aufnahme der "low-density"-Lipoproteine (LDL) in die Zelle verantwortlich ist. Die familiäre Hypercholesterinämie ist mit einer Häufigkeit von 1:500 eine der häufigsten monogenen Erkrankungen und manifestiert sich durch eine ausgeprägte Erhöhung des LDL-Cholesterins im Plasma sowie einem stark erhöhten Risiko für Arteriosklerose und koronare Herzerkrankungen. Eine reduzierte Penetranz für pathogene **LDLR**-Veränderungen ist beschrieben (Garcia-Garcia et al., 2011, PMID: 21868016; Ison et al., aktualisiert 2022, PMID: 24404629, GeneReviews).

### LDLR, c.185\_186insT; p.Cys63Valfs\*67 (het.), ClinVar ID: 251045

ACMG/ACGS Kriterium	Punkte	Erklärung
<b>PVS1</b>	+8	Die Veränderung führt wahrscheinlich zum Verlust (oder Trunkierung) des Proteins und entspricht somit dem bekannten Pathomechanismus für eine <b>LDLR</b> -assoziierte Erkrankung.
<b>PS4</b> (supporting)	+1	Die Prävalenz der Variante bei betroffenen Personen ist im Vergleich zur Prävalenz bei Kontrollpersonen erhöht. Bertolini et al., 2013, PMID: 23375686
<b>PM2</b>	+2	Die Variante ist nicht in der Populationsdatenbank gnomAD gelistet.
<b>ACMG/ACGS Klassifizierung:</b> pathogen	+11	

Für jede genetische Diagnostik wird eine genetische Beratung empfohlen, insbesondere wenn eine genetische Erkrankung diagnostiziert wurde.

Befund erstellt von: XXX

Geprüft durch: XXX

Validiert durch: XXX

Mit freundlichen Grüßen

*Saskia Biskup*

Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup

Fachärztin für Humangenetik

## Ergänzende Informationen

<b>Untersuchte Regionen</b>	<p><b>ACTA2, ACTC1, APC, APOB, ATP7B, BMPR1A, CACNA1S, COL3A1, DSC2, DSG2, DSP, FBN1, GLA, KCNH2, KCNQ1, LDLR, LMNA, MEN1, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, NF2, OTC, PCSK9, PKP2, PRKAG2, PTEN, RB1, RET, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD3, SMAD4, STK11, TGFBR1, TGFBR2, TMEM43, TNNI3, TNNT2, TP53, TPM1, TSC1, TSC2, VHL, WT1</b> (ACMG-Gene für Minderjährige)</p> <p>Bekannt pathogene oder wahrscheinlich pathogene Varianten in 52 Genen mit einem Erkrankungsbeginn im Kindesalter, gemäß der Definition des American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), werden entsprechend der aktuellen Richtlinien berichtet (Miller et al., 2022, PMID: 35802134). Mit Erreichen der Volljährigkeit des Patienten können im Einklang mit dem GenDG die zusätzlichen ACMG-Gene mit Erkrankungsbeginn im Erwachsenenalter untersucht werden.</p>
<b>Allgemeine Hinweise</b>	<p>Varianten in nicht untersuchten Bereichen der analysierten Gene (z.B. Introns, untranslatierte Regionen (UTRs), Promotor oder Enhancer), in Bereichen mit multiplen Kopien hoher Sequenzhomologie, Repeat-Expansions sowie Kopienzahlveränderungen einzelner Exons oder eines gesamten Gens können nicht sicher erfasst und somit nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren können Mosaik mit geringem Frequenzanteil nicht sicher erfasst und somit ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Aufgrund neuer Erkenntnisse oder verbessertem wissenschaftlichen Verständnis kann sich die Einschätzung von Varianten zu einem späteren Zeitpunkt verändern.</p>
<b>Information zur Interpretation der Tabellen</b>	<p><b>Erbgang:</b> AD – autosomal dominant; AR – autosomal rezessiv; XL – X-chromosomal; mito – mitochondrial</p> <p><b>MAF:</b> Die <i>minor allele frequency</i> gibt Auskunft über die Seltenheit einer Variante in der Bevölkerung. Für Varianten, die auf der mitochondrialen DNA kodiert sind, wird die Frequenz homoplasmatischer Träger in einer Referenzpopulation angegeben (gnomAD).</p> <p><b>Bewertung:</b> Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den Richtlinien der ACMG, der ACGS-2020v4.01 sowie der ClinGen SVI WG (Richards et al., 2015, PMID: 25741868; Ellard et al., 2020, Association for Clinical Genomic Science; <a href="https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/">https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/</a>). Die Gewichtung der Kriterien bzw. deren Modifikation erfolgt nach den aktuellen Empfehlungen der ACGS in den Stärken <i>Very Strong</i> (+ 8), <i>Strong</i> (+/- 4), <i>Moderate</i> (+/- 2), sowie <i>Supporting</i> (+/- 1). Entsprechend der jeweiligen Kategorie (pathogen, benigne) und Kriteriumsstärke werden oben genannte positive oder negative Punkte vergeben (Tavtigian et al., 2020, PMID: 32720330). Varianten unklarer Signifikanz (VUS) werden nach ihrer Wahrscheinlichkeit zukünftig eine pathogene Klassifikation zu erreichen einem Temperaturgradienten folgend in <i>hot</i>, <i>warm</i>, <i>tepid</i>, <i>cool</i>, <i>cold</i> und <i>ice cold</i> VUS subkategorisiert. Die A-posteriori-Wahrscheinlichkeit nimmt in dieser Reihenfolge von 90 % bis 10 % ab (Ellard et al., 2020, Association for Clinical Genomic Science). Erreicht eine Variante die Klasse pathogen werden, nach Prüfung aller benignen Kriterien, nicht zwingend alle weiteren anwendbaren Kriterien aufgeführt.</p> <p>Die chromosomalen Positionen der im Befund aufgeführten Varianten beziehen sich auf das humane Referenzgenom hg19.</p>
<b>Methoden</b>	<p><b>Sequenzierung:</b> Die kodierenden Bereiche sowie die angrenzenden Intronbereiche und weitere nicht kodierende, krankheitsrelevante Regionen wurden mittels in-solution-hybridization Technologie angereichert und anschließend mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung auf dem Illumina NovaSeq 6000/NovaSeq X Plus System analysiert.</p> <p><b>NGS basiertes CNV-Calling:</b> CNVs (<i>copy number variations</i>) wurden auf Basis von Sequenzen, die eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, unter Verwendung einer intern entwickelten Methode basierend auf der Sequenzierungstiefe berechnet (nicht anwendbar auf das mitochondriale Genom). Es wurden Referenzproben verwendet, um ein Modell der erwarteten Abdeckung zu erstellen, das sowohl mögliche Abweichungen im Laborprozess als auch Variation zwischen Proben generell widerspiegelt. Das <i>CNV-Calling</i> wurde durchgeführt, indem die normalisierte Abdeckung jeder Probe und deren Abweichung von der erwarteten Abdeckung berechnet wurden. Genomische Regionen werden als Variante bezeichnet, wenn sie signifikant von der erwarteten Abdeckung abweichen. Die Bezeichnung der nachgewiesenen Kopienzahlveränderungen erfolgt nach den Richtlinien der aktuellen ISCN. Kopienzahlneutrale strukturelle Veränderungen wie z.B. balancierte Translokationen, Inversionen, uniparentale Heterodisomien sowie niedrigprozentige Mosaik können mit dieser Methode nicht erkannt werden. Kopienzahlveränderungen innerhalb der pseudoautosomalen Regionen können nicht mit hoher Genauigkeit erfasst werden. Das NGS-basierte CNV-Calling erlaubt keine Aussage über den Integrationsort</p>

von Duplikationen.

Bitte beachten Sie, dass die auf *Next-Generation Sequencing* basierende Detektion von Kopienanzahlveränderungen eine geringere Sensitivität/Spezifität aufweist als beispielsweise eine MLPA. Kopienzahlneutrale strukturelle Aberrationen können mit der durchgeführten Methode nicht detektiert werden (z.B. balancierte Translokationen und balancierte Inversionen). Sämtliche befundeten CNVs wurden, wenn möglich, mit Hilfe einer zweiten Methode validiert. Im Rahmen des Befundes nicht berichtete CNVs garantieren letztlich nicht das generelle Fehlen von CNVs.

**Bioinformatik:** Die Sequenzierdaten wurden mit Illumina bcl2fastq2 aufbereitet. Mitsequenzierte Adaptersequenzen wurden mit Skewer entfernt und die so erhaltenen Sequenzen durch den Burrows Wheeler Aligner gegen das humane Referenzgenom (hg19) aligniert. Sequenzen, die nicht eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, wurden entfernt, ebenso Sequenzduplikate, die wahrscheinlich auf die Amplifikation zurückzuführen sind. Anhand der verbleibenden Sequenzen hoher Qualität wurden Sequenzvarianten (Einzelnukleotidaustausche und kurze Insertionen/Deletionen) bestimmt. Diese wurden mit verschiedenen internen und externen Datenbanken annotiert.

**Genetische Datenauswertung:** Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den ACMG/ACGS-2020v4.01 Richtlinien (Richards et al., 2015, PMID: 25741868, Ellard et al., 2020, Association for Clinical Genomic Science).

Bewertet werden nur Varianten (SNVs/Small Indels) mit einer Populationsfrequenz (MAF) < 1,5 % innerhalb der kodierenden Regionen sowie in flankierenden intronischen Regionen ( $\pm 8$  bp). Bekannte krankheitsauslösende Varianten (laut HGMD) werden in flankierenden Regionen bis zu  $\pm 30$  bp und bis zu einer MAF < 5 % bewertet. Populationsfrequenzen werden anhand öffentlicher Datenbanken (z.B. gnomAD) sowie einer internen Datenbank ermittelt. Unzureichend abgedeckte Bereiche werden für ACMG-Panels nicht re-sequenziert. Ein negativer ACMG-Befund schließt das Vorliegen einer Erkrankung nicht vollständig aus. Sämtliche für den gegebenen Fall relevanten und nach obigem Vorgehen identifizierten CNVs werden manuell evaluiert. Potenziell pathogene Ergebnisse werden ggf. mit einer zweiten diagnostischen Methode, wie beispielsweise MLPA, validiert.

Im vorliegenden Fall wurde mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine Sequenziertiefe von min. 30X für 99,28 % der kodierenden Bereiche erreicht. Befundet werden nur Varianten, die entsprechend der aktuellen Datenlage nicht als benigne, wahrscheinlich benigne oder Varianten unklarer Signifikanz eingestuft wurden. Synonyme Varianten in mitochondrial kodierten Genen werden als benigne bewertet.

Die Nomenklatur gefundener Varianten erfolgt nach den Richtlinien der HGVS, jedoch ohne Berücksichtigung der allelischen Zuordnung einzelner Varianten, da diese meist nicht bekannt ist.

Die Probe hat die bei uns geltenden Qualitätskriterien nach Probeneingang und den jeweiligen analytischen Bearbeitungsschritten im Labor eingehalten.

Bei dem oben beschriebenen Verfahren handelt es sich um einen inhouse entwickelten und validierten Test (Laboratory developed test; LDT).

**Bezüglich Mitteilung, Weitergabe und wissenschaftlicher Verwendung dieses Befundes gelten die Bestimmungen des GenDG.**