Zentrum für Humangenetik Tübingen

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen

Frau
Dr. med. Erika Muster
Paul-Ehrlich-Straße 23
72076 Tübingen

Patient	XXX, XX
ID #	männlich (*TT.MM.JJJJ)
Probeneingang	xxx
Material	EDTA-Blut
Befunddatum	xxx
Befund-ID	R#

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

Indikation Hypogonadotroper Hypogonadismus

Auftrag Molekulargenetische Diagnostik: *AMH, AMHR2, ANOS1, CHD7, CPE, DUSP6, FEZF1, FGFR1, FGF8, FGF17, FLRT3, FSHB, GNRHR, GNRH1, HAMP, HFE, HESX1, HSD3B2, HS6ST1, IGSF10, IL17RD, KISS1R, LHB, LHCGR, LAS1L, NDNF, NR0B1, NSMF, PROK2, PROKR2, PRORP, SEMA3A, SLC40A1, SOX10, SOX2, SOX3, SPRY4, TAC3, TACR3, TCF12, TFR2* und *WDR11* (Exomanreicherung)

Ergebnis: Auffälliger Befund

- **Nachweis einer wahrscheinlich pathogenen Variante im Gen *FGFR1*, die mit einem hypogonadotropen Hypogonadismus 2 assoziiert und mit der Symptomatik Ihres Patienten vereinbar ist.**
- Es wurden keine genomischen Zugewinne oder Verluste gefunden, die nach derzeitigem Kenntnisstand für die Erkrankung Ihres Patienten ursächlich sind.

Gen	Variante	Zygotie	Erbgang	MAF (%)	Bewertung
FGFR1	**c.1865G>A; p.Arg622Gln** **chr8:38272409 C>T**	**het.**	**AD**	**-**	**wahrscheinlich pathogen**

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

Empfehlung

Wir empfehlen eine weiterführende klinische Diagnostik und Versorgung entsprechend dem aktuellen Protokoll für isolierten Gonadotropin-Releasing-Hormon-Mangel (GnRH Deficiency, Balasubramanian und Crowley, aktualisiert 2022, PMID: 20301509, GeneReviews).

Um festzustellen, ob die Variante im Gen *FGFR1 de novo* entstanden ist, empfehlen wir die Untersuchung der Eltern des Patienten hinsichtlich dieser Veränderung.

Humangenetische Relevanz

Der Patient ist heterozygoter Träger einer wahrscheinlich pathogenen Variante im Gen *FGFR1*, die für die Familienplanung und auch für Verwandte relevant sein kann.

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup | Fachärztin für Humangenetik
Tel: 07071 565 44 00 | Fax: 07071 565 44 22 | info@humangenetik-tuebingen.de | www.humangenetik-tuebingen.de
VR Bank Tübingen eG | IBAN: DE22 6406 1854 0602 6410 04 | SWIFT / BIC: GENODES1STW

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-21320-01-00
Akkreditiert nach DIN EN ISO 15189:2014

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

Klinische Information und Varianten-Interpretation

***FGFR1*, NM_023110.3**

OMIM / Referenz	Phänotyp	Erbgang
615465	Hartsfield-Syndrom (HRTFDS)	AD
147950	**Hypogonadotroper Hypogonadismus 2 mit oder ohne Anosmie (HH2)**	**AD**
123150	Jackson-Weiss-Syndrom (JWS)	AD
166250	Osteoglophone Dysplasie (OGD)	AD
101600	Pfeiffer-Syndrom	AD
190440	Trigonozephalie 1 (TRIGNO1)	AD

Das Gen ***FGFR1*** kodiert für ein Mitglied der Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptoren-Familie, die durch Interaktion mit Fibroblasten-Wachstumsfaktoren spezifische Signalkaskaden der Mitogenese, Zelldifferenzierung und im Fall von FGFR1 speziell der Extremitätenentwicklung initiiert. Teil der Funktion ist die korrekte Migration der Gonadotropin-produzierenden Zellen. Pathogene Varianten in *FGFR1* können, dem autosomal dominanten Erbgang folgend, kongenital ein breites phänotypisches Spektrum unterschiedlichen Schweregrades verursachen. Die klinische Symptomatik umfasst isolierte Skelettauffälligkeiten (JWS – Kraniosynostose und Fußanomalien) bis hin zu syndromalen Phänotypen (HRTFDS) mit Gehirn- (Holoprosenzephalie) und Skelettauffälligkeiten (z. B. Ektrodaktylie) sowie neurologischen Symptomen (u. a. Epilepsie, Entwicklungsstörung) und endokrinen Störungen bei reduzierter Penetranz und variabler Expressivität (vgl. Dhamija und Babovic-Vuksanovic, aktualisiert 2022, PMID: 26937548, GeneReviews; Balasubramanian und Crowley, aktualisiert 2022, PMID: 20301509, GeneReviews).

***FGFR1*, c.1865G>A; p.Arg622Gln (het.)**

ACMG/ACGS Kriterium	Punkte	Erklärung
PM1	+2	Die Variante befindet sich innerhalb einer kritischen Region des Gens *FGFR1*.
PM2	+2	Die Variante ist nicht in der Populationsdatenbank gnomAD gelistet.
PM5	+2	Die Variante führt zum Austausch einer Aminosäure, für die bereits ein anderer Austausch (p.Arg622Gly) als pathogen beschrieben wurde. Zenaty et al., 2006, PMID 16757108
PP3	+1	Die Variante wird von den verwendeten *in silico* Vorhersageprogrammen als pathogen eingestuft.
ACMG/ACGS Klassifizierung: Wahrscheinlich pathogen	+7	B (≤ -7) | LB (-6 – -1) | VUS (Ice Cold) (0) | VUS (Cold) (1) | VUS (Cool) (2) | VUS (Tepid) (3) | VUS (Warm) (4) | VUS (Hot) (5) | **LP (6 – 9)** | P (≥ 10)

Nach § 10 GenDG soll jede diagnostische genetische Untersuchung mit dem Angebot einer genetischen Beratung einhergehen. Bei gesicherter Diagnose einer genetischen Erkrankung ist eine genetische Beratung anzubieten.

Befund erstellt von: XXX

Geprüft durch: XXX

Validiert durch: XXX

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup | Fachärztin für Humangenetik
Tel: 07071 565 44 00 | Fax: 07071 565 44 22 | info@humangenetik-tuebingen.de | www.humangenetik-tuebingen.de
VR Bank Tübingen eG | IBAN: DE22 6406 1854 0602 6410 04 | SWIFT / BIC: GENODES1STW

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-21320-01-00
Akkreditiert nach DIN EN ISO 15189:2014

Mit freundlichen Grüßen

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

Fachärztin für Humangenetik

Ergänzende Informationen

Untersuchte Regionen

Für den oben genannten Patienten wurde eine Exom-Sequenzierung durchgeführt.

AMH (NM_000479.5), ***AMHR2*** (NM_020547.3), ***ANOS1*** (NM_000216.4), ***CHD7*** (NM_017780.4), ***CPE*** (NM_001873.4), ***DUSP6*** (NM_001946.4), ***FEZF1*** (NM_001024613.4), ***FGFR1*** (NM_023110.3), ***FGF8*** (NM_033163.5), ***FGF17*** (NM_003867.4), ***FLRT3*** (NM_198391.3), ***FSHB*** (NM_000510.4), ***GNRHR*** (NM_000406.3), ***GNRH1*** (NM_000825.3), ***HAMP*** (NM_021175.4), ***HFE*** (NM_000410.4), ***HESX1*** (NM_003865.3), ***HSD3B2*** (NM_000198.4), ***HS6ST1*** (NM_004807.3), ***IGSF10*** (NM_178822.5), ***IL17RD*** (NM_017563.5), ***KISS1R*** (NM_032551.5), ***LHB*** (NM_000894.3), ***LHCGR*** (NM_000233.4), ***LAS1L*** (NM_031206.7), ***NDNF*** (NM_024574.4), ***NR0B1*** (NM_000475.5), ***NSMF*** (NM_015537.5), ***PROK2*** (NM_001126128.2), ***PROKR2*** (NM_144773.4), ***PRORP*** (NM_001256681.2), ***SEMA3A*** (NM_006080.3), ***SLC40A1*** (NM_014585.6), ***SOX10*** (NM_006941.4), ***SOX2*** (NM_003106.4), ***SOX3*** (NM_005634.3), ***SPRY4*** (NM_030964.5), ***TAC3*** (NM_013251.4), ***TACR3*** (NM_001059.3), ***TCF12*** (NM_207036.2), ***TFR2*** (NM_003227.4), ***WDR11*** (NM_018117.12)

Allgemeine Hinweise

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-Expansionen sowie Kopienzahlveränderungen einzelner Exons oder eines gesamten Gens können nicht sicher erfasst und somit nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren können Mosaike 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.

Information zur Interpretation der Tabellen

Erbgang: AD – autosomal dominant; AR – autosomal rezessiv; XL – X-chromosomal; mito – mitochondrial

MAF: Die ***minor allele frequency*** 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).

Bewertung: 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; https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/). Die Gewichtung der Kriterien bzw. deren Modifikation erfolgt nach den aktuellen Empfehlungen der ACGS in den Stärken *Very Strong* (+ 8), *Strong* (+/- 4), *Moderate* (+/- 2), sowie *Supporting* (+/- 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 *hot*, *warm*, *tepid*, *cool*, *cold* und *ice cold* 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.

Die chromosomalen Positionen der im Befund aufgeführten Varianten beziehen sich auf das humane Referenzgenom hg19.

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup | Fachärztin für Humangenetik
Tel: 07071 565 44 00 | Fax: 07071 565 44 22 | info@humangenetik-tuebingen.de | www.humangenetik-tuebingen.de
VR Bank Tübingen eG | IBAN: DE22 6406 1854 0602 6410 04 | SWIFT / BIC: GENODES1STW

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-21320-01-00
Akkreditiert nach DIN EN ISO 15189:2014

Methoden

NGS basiertes CNV-Calling: CNVs (*copy number variations*) 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 *CNV-Calling* 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. Balancierte Translokationen, uniparentale Disomien, sowie niedrigprozentige Mosaike können mit dieser Methode nicht erkannt werden. Regionen auf dem Y-Chromosom sowie die pseudoautosomalen Regionen können nicht mit hoher Genauigkeit erfasst werden. Das NGS-basierte CNV-Calling erlaubt keine Aussage über den Integrationsort 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.

Für die Beurteilung der Varianten wurden die klinischen Informationen herangezogen, die uns zum Zeitpunkt der Auswertung vorlagen. Befundet werden nur Varianten, die entsprechend der aktuellen Datenlage nicht als benigne oder wahrscheinlich benigne eingestuft wurden. Synonyme Varianten in mitochondrial kodierten Genen werden als benigne bewertet. Zur in silico-Vorhersage wurden die Programme MetaLR (Dong et al., 2015, PMID: 25552646), PrimateAI (Sundaram et al., 2018, PMID: 30038395) sowie SpliceAI (Jaganathan et al., 2019, PMID: 30661751) verwendet. In Einzelfällen kann diese Prädiktion durch zusätzliche *in silico*-Vorhersagen ergänzt werden.

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.

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup | Fachärztin für Humangenetik
Tel: 07071 565 44 00 | Fax: 07071 565 44 22 | info@humangenetik-tuebingen.de | www.humangenetik-tuebingen.de
VR Bank Tübingen eG | IBAN: DE22 6406 1854 0602 6410 04 | SWIFT / BIC: GENODES1STW

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-21320-01-00
Akkreditiert nach DIN EN ISO 15189:2014