

## ГЛАВА 8. ДНК-ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА

Е.И. Кондратьева, О.А. Щагина

### CHAPTER 8. DNA-BASED DIAGNOSTICS OF RESPIRATORY DISEASES

Elena I. Kondrat'eva, Olga A. Shchagina

Наследственные заболевания — это состояния, которые вызваны генетическими мутациями или аномалиями, передающимися от одного или обоих родителей их потомству.

Исчерпывающего списка орфанных заболеваний легких нет, однако на сайте [www.orpha.net](http://www.orpha.net) можно найти обширную базу данных, в которую вошли разнообразнейшие орфанные болезни. Они могут поражать только легкие (например, идиопатический легочный фиброз), а также другие части тела и органы (например, системный склероз). Перечень наследственных заболеваний респираторного тракта приводится в табл. 1.

Спектр причин, приводящих к орфанным заболеваниям, широк. Причем существует множество подобных патологических состояний, причины которых неизвестны вовсе. Одни орфанные болезни являются генетическими, т. е. передаются от родителей к детям, хотя могут возникать случайным образом из-за повреждения генов (мутации). Другие возникают в силу сбоя в работе иммунной системы. Некоторые патологические состояния такого рода со временем перестают расцениваться как орфанные, после того как их интенсивно изучают и разрабатывают доступные методы лечения. Например, в последние несколько лет так произошло с идиопатической легочной гипертензией.

Молекулярная биология изучает связь между генетической информацией и признаками организма, которые реализуются с помощью белков. Основными процессами, которые исследуются данным разделом генетики, являются репликация, транскрипция и трансляция. Именно благодаря им происходит передача и реализация наследственной информации, и потомки получают те же признаки, что и родители.

Ген — это структурная и функциональная единица наследственности, контролирующая образование какого-либо признака и представляющая собой отрезок молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты.

Причиной наследственных заболеваний являются различные изменения нуклеотидной последовательности генов — мутации, или, согласно современной терминологии, варианты. На основании накоплен-

ных знаний их можно разделить на несколько категорий [1].

- Точковые мутации — замены одного нуклеотида в последовательности ДНК на другой. К ним относятся миссенс-мутации (замена нуклеотида, приводящая к замене аминокислоты в последовательности белка), нонсенс-мутации (замена нуклеотида, приводящая к замене аминокислоты на терминирующий кодон), мутации сайта сплайсинга (изменения нуклеотидов в не кодирующих белок регуляторных областях, приводящие к неправильному «сшиванию» экзонов).
- Делеции — выпадения одного или нескольких нуклеотидов.
- Инсерции — вставки одного или нескольких нуклеотидов. Частным случаем инсерции является дупликация — вставка «куска» ДНК, по своему нуклеотидному составу повторяющая существующую последовательность.
- Экспансии — увеличение числа повторов.
- Инверсии — изменение ориентации или переворот части генетического материала без изменения его нуклеотидного состава.

Следует отметить, что делеции и инсерции могут иметь различную протяженность — от одного нуклеотида до целого фрагмента хромосомы, включающего десятки генов. Делеции и инсерции, захватывающие целый экзон гена и более, называют протяженными.

Успехи чтения генетической последовательности привели к тому, что на сегодняшний день медицинское сообщество отказывается от терминов «мутация» и «полиморфизм», обозначающих злокачественное или доброкачественное изменение ДНК, и переходит к понятию «вариант нуклеотидной последовательности» либо просто «вариант». Для вариантов предлагается использовать степени патогенности: доброкачественный, вероятно-доброкачественный, неопределенного значения, вероятно-патогенный, патогенный на основании комбинации критериев патогенности и доброкачественности [2].

После проведения ДНК-диагностики лабораторией выдается заключение. В нем должны быть

Таблица 1. Наследственные заболевания легких (по данным сайта <https://www.orpha.net> с дополнениями)

Название, коды в Международной классификации болезней 10-го пересмотра	Код в базе данных Orphanet#	Распространенность	Тип наследования	Возраст начала заболевания	Код в базе OMIM	Генетическая диагностика (по данным специальной литературы)
Муковисцидоз (кистозный фиброз): E84.0; E84.1; E84.8; E84.9	586	В Европе средняя распространенность при рождении – 1 : 2 500 населения; средняя распространенность в РФ – 1 : 9 000–10 000 населения	Аутосомно-рецессивный	Все возрасты	219700	3-этапная ДНК-диагностика: 1) поиск частых генетических вариантов в гене <i>CFTR</i> (30 шт.) или мультигенная кастомная панель**; поиск мутаций в генах; в 17 генах, ответственных за муковисцидоз, ПЦД, бронхоэктазы и подобные состояния (NGS) [10–13]; 2) расширенный поиск более редких вариантов с использованием секвенирования по Сэнгеру или высокопроизводительного секвенирования генома (MPS/NGS) [13]; 3) поиск последовательностей гена, незначительных по протяженности: нуклеотидные замены, делеции/инсерции методом MLPA (мультиплексная лигазная зондовая амплификация) либо QFMP (количественная флуоресцентная мультиплексная ПЦР) [13]. Пренатальная диагностика [14–16]. Преимплантационное генетическое тестирование [16]
Первичная цилиарная дискинезия (ПЦД): Q33.8	244	Предполагаемая частота – 1 : 15 000–1 : 30 000 живорожденных	Аутосомно-доминантное или аутосомно-рецессивное или сцепленное с X-хромосомой рецессивное	Неонатальный	242650, 244400	Анализ наиболее частых патогенных вариантов в конкретном гене (в первую очередь актуально для лиц определенной этнической принадлежности) [17]. Целевое тестирование определенного гена [17, 18]. Генетическая панель диагностических тестов ПЦД [18]. Мультигенная кастомная панель** с использованием секвенирования следующего поколения (NGS). Секвенирование экзома [19].
Дефицит $\alpha_1$ -антитрипсина: E88.0	60	1–5 : 10 000 населения	Аутосомно-рецессивный	Все возрасты		Измерение $\alpha_1$ -антитрипсина в плазме крови [20]. Генотипирование гена <i>SERPINA1</i> [20]. Секвенирование всего гена <i>SERPINA1</i> [20]
Синдром Ослера–Рандю–Вебера (наследственная геморрагическая телеангиэктазия): I78.0	774	≈ 1 : 6 000 населения	Аутосомно-доминантный	Все возрасты	187300, 600376, 601101, 610655, 615506	Анализ генетической последовательности <i>ACVRL1</i> и <i>ENG</i> [21, 22]. Анализ делеции/дупликации <i>ACVRL1</i> и <i>ENG</i> , если патогенный вариант не обнаружен [22]. Анализ последовательности <i>GDF2</i> , <i>RASA1</i> и <i>EPHB4</i> может быть рассмотрен для лиц с симптомами, у которых не выявлено патогенного варианта в <i>ACVRL1</i> , <i>ENG</i> или <i>SMAD4</i> [22]. Мультигенная панель [22]. Секвенирование экзома [22]. Пренатальная диагностика / преимплантационное генетическое тестирование [21]
Синдром Бёрта–Хогга–Дьюбе: Q87	122	≈ 1 : 200 000 населения, но точная частота неизвестна	Аутосомно-доминантный	Взрослые, пожилые	135150	Поиск генетических вариантов гена <i>FLCN</i> : поиск небольших внутригенных делеций/вставок, а также миссенс-, нонсенс-вариантов и вариантов сайта сплайсинга [23]. Мультигенная панель [23]. Комплексное геномное тестирование, секвенирование экзома, секвенирование генома, ДНК-микрочип) [23]: 1) если известен семейный патогенный вариант <i>FLCN</i> – молекулярно-генетическое тестирование для раннего выявления членов семьи из группы риска [23]; 2) пренатальная ДНК-диагностика / преимплантационное генетическое тестирование [23]; 3) генетическое консультирование (включая обсуждение потенциальных рисков для потомства и репродуктивных возможностей) молодых людей, которые страдают орфанными заболеваниями или находятся в группе риска [23]
Семейный спонтанный пневмоторакс: J93.0	2903	≈ 5–10 на 100 000 населения, но точная частота неизвестна	Аутосомно-доминантный	Подростковый возраст, взрослые	173600	Поиск генетических вариантов гена <i>FLCN</i> , <i>FBN1</i> (синдром Марфана), <i>COL3A1</i> (сосудистый синдром Элерса–Данло), <i>CBS</i> (гомоцистинурия), <i>SERPINA1</i> (дефицит A1AT) [24]. Поиск выявленной в данной семье точковой мутации у родственника [24]

Таблица 1 (окончание)

Название, коды в Международной классификации болезней 10-го пересмотра	Код в базе данных Orphanet#	Распространенность	Тип наследования	Возраст начала заболевания	Код в базе OMIM	Генетическая диагностика (по данным специальной литературы)
Идиопатический легочный фиброз: J84.9	2032	0,2–94,0 на 100 000 населения в год	Мультигенный/многофакторный	Взрослые	178500, 616371, 616373, 619611	Измерение длины теломер с помощью проточной цитометрии с флуоресцентной гибридизацией <i>in situ</i> (flow FISH) [25, 26]. Мультигенная панель, включающая гены, связанные с синдромом коротких теломер ( <i>TERT</i> , <i>RTEL1</i> , <i>PARN</i> , <i>TERC</i> , <i>DKC1</i> , <i>NAF1</i> , <i>ZCCHC8</i> , <i>TINF2</i> ), и гены, связанные с метаболизмом сурфактанта ( <i>SFTPA1</i> , <i>SFTPA2</i> , <i>ABCA3</i> , <i>SFTPC</i> ) [25]. Другие гены, ассоциированные с фиброзом легких ( <i>CFTR</i> , <i>COPA</i> , <i>GBA</i> , <i>NF1</i> , <i>NKX2-1</i> , <i>RNF168</i> , <i>SMPD1</i> , <i>TMEM173</i> ) [25]. Поиск генетических вариантов гена <i>MUC5B</i> [25]. ДНК-диагностика родственников пробанда [25]. Пренатальное и преимплантационное генетическое тестирование [25]
Комплекс туберозного склероза: Q85.1	805	1 : 5 000–10 000 населения	Мультигенный/аутосомно-доминантный	Дети, взрослые	19100, 613254	Анализ нуклеотидных последовательностей и анализ делеции/дупликации генов <i>TSC1</i> (кодирующий гамартин) и <i>TSC2</i> (кодирующий туберин) [27]. Мультигенная панель (когда диагноз комплекса туберозного склероза не определен) [27]
Легочный альвеолярный микролитиаз: J84.0	60025	Неизвестно	Аутосомно-рецессивный или неизвестное наследование	Все возрасты	265100	Мультигенная панель. Поиск генетических вариантов гена <i>SLC34A2</i> . Анализ делеции/дупликации <i>SLC34A2</i>
Наследственный легочный альвеолярный протеиноз: J84.0	264675	1 : 1 000 000 населения	Аутосомно-рецессивный	Все возрасты	300770, 614370	Поиск генетических вариантов генов <i>SFTPB</i> , <i>SFTPC</i> , <i>ABCA3</i> , <i>CSF2RA</i> , <i>CSF2RB</i> . Анализ делеций/дупликаций
Синдром Херманско-го-Пудлака: E70.3	79430	1 : 500 000 населения	Аутосомно-рецессивный	Неонатальный, младенчество	203300, 608233, 614072, 614073	Поиск генетических вариантов генов <i>HPS1</i> , <i>HPS4</i> , <i>HPS3</i> , <i>HPS5</i> и <i>HPS6</i> , <i>AP3B</i> , <i>AP3D1</i> . Мультигенная панель, включающая гены <i>AP3B1</i> , <i>AP3D1</i> , <i>BLOC1S3</i> , <i>BLOC1S5</i> , <i>BLOC1S6</i> , <i>DTNBP1</i> , <i>HPS1</i> , <i>HPS3</i> , <i>HPS4</i> , <i>HPS5</i> , <i>HPS6</i> . Секвенирование экзона, секвенирование генома [28]
Сурфактантная недостаточность: P22.0	217566	≈ 1 : 1 000 000 населения (точная цифра неизвестна)	Аутосомно-рецессивный	Неонатальный возраст, младенчество	610913	Мультигенная панель, включающая гены <i>ABCA3</i> , <i>SMDP4</i> , <i>SMDP2</i> , <i>CSF2RA</i> , <i>SMDP5</i> , <i>CSF2RB</i> . Секвенирование всей кодирующей последовательности генов
Атаксия-телеангиэктазия: G11.3	100	1–9 : 1 000 000 населения	Аутосомно-рецессивный	Младенчество, детство	208900, 208910	Мультигенная панель, включающая варианты гена <i>ATM</i> [29]. Поиск патогенных вариантов гена <i>ATM</i> [29]
X-сцепленная агаммаглобулинемия: D80.0	47	От 1 : 350 000 до 1 : 700 000 населения	Сцепленное с X-хромосомой рецессивное	Детство	300310, 300755	Поиск патогенных вариантов гена <i>BTK</i> [29]. Мультигенная панель, включающая варианты гена <i>BTK</i> [30]. Комплексное геномное тестирование: секвенирование экзона, секвенирование генома [30]. Поиск выявленной в данной семье точковой мутации у родственника [30]. Пренатальная ДНК-диагностика [30]
X-сцепленный Иммунодефицит: D84.8	276	≈ 1 : 200 000 населения	Сцепленное с X-хромосомой рецессивное	Неонатальный	300400	Мультигенная панель иммунодефицита, включающая <i>IL2RG</i> [31]. Поиск частых генетических вариантов в гене <i>IL2RG</i> [31]. Секвенирование экзона [31]. Поиск выявленной в данной семье точковой мутации у родственника [31]. Пренатальная ДНК-диагностика [31]. Скрининг новорожденных для поиска состояний, характеризующихся тяжелым комбинированным иммунодефицитом [31]
Синдром Вильямса–Кембелла: Q33.4	411501	Точно неизвестно	Неизвестно	Дети, взрослые	211450	Диагноз ставится путем исключения других заболеваний с бронхоэктазами и проведения компьютерной томографии органов грудной клетки. Генетические тесты не разработаны

Примечание: \* – приведены наиболее часто встречающиеся заболевания; \*\* – мультигенная панель разработана в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», включает в себя гены первичной цилиарной дискинезии, на долю которых приходится ≥ 3% случаев (*CCDC39* (4–9%), *CCDC40* (3–4%), *CCDC103* (<4%), *DNAH5* (15–29%), *DNAH11* (6–9%), *DNAI1* (2–10%), *SPAG1* (< 4%), *ZMYND10* (< 2–4%)), а также гены муковисцидоза (*CFTR*), бронхоэктазов с повышенным содержанием хлоридов пота или без него (*SCNN1A*, *SCNN1B*, *SCNN1G*), изолированного гиперхлоридроза (*CA12*), синдрома Швахмана–Даймонда (*SBDS*, *DNAJC21*, *EFL1*, *SRP54*).

указаны ген или конкретные мутации одного или нескольких генов, исследованных у пробанда, а также метод исследования и результат диагностики. Результатом диагностики может быть наличие или отсутствие изменений нуклеотидной последовательности.

Мутация является необходимой и достаточной причиной моногенной болезни. Ее выявление у пробанда является однозначным подтверждением клинического диагноза на молекулярном уровне и дает возможность для проведения пренатальной диагностики и диагностики носительства у членов семьи. Для подтверждения диагноза аутосомно-рецессивного заболевания необходимо выявление мутаций на обеих хромосомах в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии. Использование методов поиска известных мутаций не всегда позволяет детектировать обе мутации. В этом случае требуется анализ всего гена. Однако в ряде случаев типичная клиническая картина и наличие биохимических изменений позволяют верифицировать диагноз без поиска второй мутации. Отсутствие детектированной второй мутации у пробанда при аутосомно-рецессивном заболевании снижает точность пренатальной ДНК-диагностики, поскольку возникает необходимость использовать косвенные методы для определения наследования поврежденной хромосомы с неидентифицированной мутацией.

Термин «вариант с неизвестной патогенностью» применяется при обнаружении в генотипе пробанда ранее не описанного изменения нуклеотидной последовательности. Чтобы определить статус этого изменения, надо провести дополнительные исследования: популяционный анализ частот замены, исследование сегрегации данной замены в семье, функциональный анализ замены с использованием биоинформационных методов и/или модельных систем.

Все детектированные варианты указываются в заключении в соответствии с международной номенклатурой. Изменение может быть записано с использованием последовательности кодирующей ДНК, например: с.23G>C, что означает «в положении 23 кодирующей ДНК гена произошла замена гуанина на цитозин», или с.92\_94delGAC — «в положении 92–94 кодирующей ДНК произошло выпадение 3 нуклеотидов». Если обнаруженный вариант приводит к аминокислотной замене в белковой последовательности, то изменение может быть записано с использованием последовательности протеина: р.Trp26Cys — «в положении 26 протеина произошла замена аминокислоты триптофан на цистеин». В некоторых случаях для удобства генетиков название мутации, соответствующее номенклатуре, может сопровождаться ее традиционным названием.

При отсутствии изменений нуклеотидной последовательности не следует исключать генетическую природу заболевания у пробанда, так как: 1) в гене

может быть мутация, не детектируемая использованным методом или не попавшая в систему детектируемых наиболее частых мутаций; 2) мутация может лежать в далеких от кодирующих последовательностей, неисследованных регуляторных областях гена; 3) вследствие генетической гетерогенности наследственных болезней мутация, ответственная за данный клинический фенотип, локализуется в другом гене [3].

### Типы наследования

Существуют несколько типов, по которым могут наследоваться изменения нуклеотидной последовательности [4].

**Аутосомно-доминантный тип наследования:** генетически обусловленная болезнь проявляется в том случае, если у человека есть хотя бы одна мутация лишь на одной из пар гомологичных хромосом, мутированный ген не расположен на половых (X и Y) хромосомах. К этому типу относится редкая форма первичной цилиарной дискинезии (ПЦД) с гетерозиготным патогенным вариантом в гене *FOXJ1* при доминантном типе наследования [5]. При доминантных заболеваниях патогенные варианты не всегда наследуются от больного родителя, а могут возникать *de novo* в одной или нескольких половых клетках одного из родителей.

**Аутосомно-рецессивный тип наследования:** для развития болезни необходимо, чтобы оба родителя передали ребенку хромосому с патогенным генетическим вариантом (мутацией), при этом сами родители здоровы из-за наличия второй нормальной копии гена. Такой тип наследования описан при муковисцидозе [6].

**X-сцепленное рецессивное наследование:** мутированный ген находится на X-хромосоме. Болезнь проявляется только в случае, если другой X-хромосомы с нормальной копией того же гена у человека нет. Мужчина с рецессивным заболеванием, связанным с X-хромосомой, передаст свою Y-хромосому без генетического дефекта сыновьям, и ни одного из них этой патологии не будет. Если же он передаст свою X-хромосому (с дефектным геном) дочерям, то все они будут носителями патогенного варианта, но сами останутся здоровыми — или же у них проявятся легкие признаки заболевания. Однако они могут передать мутированный ген своим детям. Нормальная копия обычно компенсирует дефектную копию в женском организме, в отличие от мужчин, у которых только одна X-хромосома. Такой тип наследования может иметь место при ПЦД с гемизиготным патогенным вариантом в генах *RPGR*, *PIH1D3* и *OFD1* у мужчин [5].

### Стратегия и методы ДНК-диагностики

Стратегия диагностики наследственных заболеваний включает несколько этапов.

1. Клиническая гипотеза — клинический диагноз заболевания / подозрение на заболевание.

2. Биохимическая и/или функциональная диагностика. Выявление дисфункции белка посредством оценки его количества и/или активности, например проведение потовой пробы при муковисцидозе или определение сывороточного уровня  $\alpha_1$ -антитрипсина при его дефиците.

3. Выяснение природы заболевания на уровне генов.

Материалом для поведения ДНК-диагностики являются нуклеиновые кислоты ДНК и РНК, выделенные из ядерных клеток. Наилучшим материалом для исследования является цельная кровь в пробирке с антикоагулянтом или высушенная на фильтровальной бумаге. В связи с тем, что некоторые химические элементы ингибируют работу фермента ДНК-полимеразы, для проведения ДНК-исследования подходят только антикоагулянты этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) или цитрат натрия. Кроме того, ингибировать полимеразную цепную реакцию (ПЦР) может большое количество чужеродной ДНК, например бактериальной. Выделение ДНК проводят различными методами в зависимости от типа предоставленного материала и метода молекулярно-генетического анализа, планируемого для исследования [4].

В зависимости от цели проведения анализа различают различные **типы ДНК-диагностики**:

- 1) подтверждающая (подтверждение или уточнение диагноза). ДНК диагностика является подтверждающей в ходе неонатального скрининга на муковисцидоз;
- 2) пресимптоматическая (исследование родственников пробанда не имеющих симптомов или новорожденных выявленных в рамках неонатального скрининга, например при муковисцидозе, но попадающих в группу риска по данной патологии);
- 3) диагностика носительства (для родственников пациентов и для пар, планирующих деторождение);
- 4) преимплантационная диагностика (исследование клеток эмбриона в рамках процедуры экстракорпорального оплодотворения с целью отбора зародышей, не несущих мутантный ген);
- 5) пренатальная диагностика (определение статуса плода на ранних сроках беременности);
- 6) скрининговые программы.

Кроме того, исследования ДНК могут быть применены для определения чувствительности либо противопоказаний к лекарственной терапии (фармакогенетика), идентификации личности, определения родства [7].

В диагностике наследственных заболеваний применяются различные методы. Выбор зависит от генетической гетерогенности патологии, частоты болезни, типов мутаций, характерных для конкретного гена. Для поиска частых мутаций может использоваться ПЦР в режиме реального времени или ПЦР с анализом длин амплифицированных фрагментов, для анализа отдельных генов – секвенирование по Сэнгеру. Если же нужно охватить большой участок

генома, то для чтения нуклеотидной последовательности необходимо использовать методы высокопроизводительного (ВПС, или NGS) панельного, экзомного либо полногеномного секвенирования. Основное преимущество ВПС заключается в том, что несколько генов могут быть секвенированы одновременно. Это существенно снижает затраты на секвенирование и генетическое тестирование и позволяет создавать панели ДНК-зондов для нескольких генов, мутации в которых могут приводить к клинически сходным заболеваниям [8, 9]. Для поиска протяженных делеций и дупликаций применяют методы количественного анализа: количественную мультиплексную лигазную реакцию (MLPA), хромосомный микроматричный анализ (ХМА).

Каждый применяемый в диагностике метод (табл. 2) имеет свои возможности и ограничения. Разработка протоколов ДНК-диагностики базируется на знаниях о спектрах мутаций. Так, регистр пациентов с муковисцидозом позволил определить спектр частых мутаций для 1-го этапа ДНК-диагностики [10].

Все методы ДНК-диагностики можно разделить на качественные и количественные. Качественные методы позволяют выявить точковые изменения нуклеотидной последовательности, короткие делеции и инсерции, а также протяженные делеции генов, имеющих в геноме одну копию (гены, локализующиеся на половых хромосомах мужчин). К таким методам относятся анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, анализ полиморфизма длин амплификационных фрагментов, прямое автоматическое секвенирование и др. Определить число копий гена в геноме можно с помощью блот-гибридизации, ПЦР в режиме реального времени, количественной мультиплексной лигазной реакции.

В настоящее время существует несколько клинико-диагностических лабораторий, предлагающих NGS-панели нескольких генов как для легочных, так и для других заболеваний, с различной стоимостью и временем обработки от 14 дней до 8 недель. Эти панели могут быть основаны на экзомной платформе, что означает секвенирование всего экзома, но извлекаются данные только для интересующих генов. Преимущество такого подхода заключается в том, что если есть подозрение на роль дополнительных генов, которые изначально не исследовались, или обнаруживаются новые гены, способные привести к интересующему фенотипу, то необходимо просто извлечь соответствующие данные для этого пациента, а не выполнять дополнительное секвенирование. Таким образом, сокращаются затраты и время, необходимые для получения результатов. Создание мультигенных панелей является перспективным для диагностики редких заболеваний легких, в т. ч. раннего возраста.

В настоящее время разработана следующая этапность ДНК-диагностики для орфанных заболеваний:

Таблица 2. Использование методов ДНК-диагностики

Характеристика	Название метода	Точковые мутации	Делеции/ дупликации	Протяженные делеции/ дупликации	Экспансия
Мутация известна	ПДАФ (полиморфизм длин амплификационных фрагментов)	–	+	–	+
	ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов)	+	–	–	–
	MLPA (мультиплексная лигазозависимая амплификация)	+	+	+	–
	Фрагментарный анализ	+	+	+	+
	<i>Real-time</i> ПЦР (ПЦР в реальном времени)	+	+	–/+	+
Мутация неизвестна, положение известно	Секвенирование по Сенгеру	+	+	–	–
Мутация неизвестна, положение неизвестно	Панель генов	+	+	–	–
	«Клинический» экзом				
	Экзом	+	+	–	–

1. Исследование частых мутаций: рекомендовано использовать данные о частых мутациях, характерных для конкретной популяции.
2. Если найдена 1 мутация – секвенирование гена по Сэнгеру либо в составе ВПС панели.
3. Поиск протяженных делеций/дупликаций методами анализа числа копий (мультиплексная лигазная реакция, хромосомный микроматричный анализ).

Данный алгоритм хорошо зарекомендовал себя при муковисцидозе. Для диагностики ПЦД, частота которой в РФ неизвестна, а причиной могут быть > 45 генов, рекомендуется секвенирование экзома.

Генетическая диагностика наследственных заболеваний легких, основанная на данных специальной литературы, приведена в табл. 1.

Таким образом, в настоящее время разработана ДНК-диагностика для ряда наследственных заболеваний легких, что, несомненно, скажется на понимании течения этих патологических состояний и позволит их диагностировать.

## Литература

1. Байдакова Галина Викторовна и др. Наследственные болезни: национальное руководство. Краткое издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017.
2. Robert C. Green и др., «ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing», *Genetics in Medicine* 15, вып. 7 (1 июля 2013 г.): 565–74, <https://doi.org/10.1038/gim.2013.73>;
3. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). Медицинская ге-

нетика 2019;18(2): 3–23. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>

4. Асанов А.Ю., Байдакова Г.В., Балановская Е.В. и др. Медицинская генетика. М.: ГЭОТАР-Медиа. <https://doi.org/10.33029/9704-6307-9-GEN-2022-1-896>.

5. Кондратьева Е.И., Авдеев С.Н., Мизерницкий Ю.Л. и др. Первичная цилиарная дискинезия: обзор проекта клинических рекомендаций 2022 года. Пульмонология. 2022; 32(4): 517–538. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2022-32-4-517-538>.

6. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Кондратьева Е.И. Монография муковисцидоз. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медпрактика, 2021.

7. Поляков А.В., Щагина О.А. Генетическая гетерогенность менделирующих заболеваний и ДНК-диагностика. *Медицинская генетика* 2016; 15 (2): 3–9.

8. Аникаев А.Ю., Ломоносов А.М. Применение секвенирования нового поколения (NGS) в клинической практике. *Лабораторная служба* 2014; 3(1): 32–36.

9. Richards S., Aziz N., Bale S., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17(5): 405–424. DOI:10.1038/gim.2015.30.

10. Клинические рекомендации «Кистозный фиброз (муковисцидоз)» (утв. Минздравом России). Доступно на: <https://mukoviscidoz.org/doc/%D0%9A%D0%A0372.pdf>.

11. Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., ред. Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия». М.: Боргес; 2016. Доступно на: [https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/CF\\_consensus\\_2017.pdf](https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/CF_consensus_2017.pdf).

12. Castellani C., Cuppens H., Macek M.Jr. et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J. Cyst. Fibros.* 2008; 7 (3): 179–196. DOI: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.
13. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17 (5): 405–424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
14. Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза. СПб: Интермедика; 2002.
15. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней / Под ред. Э.К. Айламазяна, В.С. Баранова. 2-е изд. М.: Медпресс-информ; 2007. Доступно на: <https://akusher.lib.ru/wp-content/uploads/2018/11/Prenatalnaya-diagnostika-nasledstvennyh-i-vrozhdennyh-boleznej.pdf>.
16. Harper J.C., Wilton L., Traeger-Synodinos J. et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum. Reprod. Update.* 2012; 18 (3): 234–247. DOI: 10.1093/humupd/dmr052.
17. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17 (5): 405–424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
18. Shapiro A.J., Zariwala M.A., Ferkol T. et al. Diagnosis, monitoring, and treatment of primary ciliary dyskinesia: PCD foundation consensus recommendations based on state of the art review. *Pediatr. Pulmonol.* 2016; 51 (2): 115–132. DOI: 10.1002/ppul.23304.
19. Knowles M.R., Daniels L.A., Davis S.D. et al. Primary ciliary dyskinesia. Recent advances in diagnostics, genetics, and characterization of clinical disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188 (8): 913–922. DOI: 10.1164/rccm.201301-0059CI.
20. Miravittles M., Dirksen A., Ferrarotti I. et al. European Respiratory Society statement: diagnosis and treatment of pulmonary disease in  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency. *Eur. Respir. J.* 2017; 50 (5): 1700610. DOI: 10.1183/13993003.00610-2017.
21. Faughnan M.E., Mager J.J., Hetts S.W. et al. Second International Guidelines for the diagnosis and management of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Ann. Intern. Med.* 2020; 173 (12): 989–1001. DOI: 10.7326/M20-1443.
22. McDonald J., Stevenson D.A. Hereditary hemorrhagic telangiectasia. [Updated: 2021]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington; 2000. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1351>.
23. Sattler E.C., Steinlein O.K. Birt-Hogg-Dubé syndrome. [Updated: 2020]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1522>.
24. Boone P.M., Scott R.M., Marciniak S.J. et al. The genetics of pneumothorax. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 199 (11): 1344–1357. DOI: 10.1164/rccm.201807-1212CI.
25. Garcia C.K., Talbert J.L. Pulmonary fibrosis predisposition overview. [Updated: 2022]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1230>.
26. Kropski J.A., Young L.R., Cogan J.D. et al. Genetic evaluation and testing of patients and families with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 195 (11): 1423–1428. DOI: 10.1164/rccm.201609-1820.
27. Northrup H., Koenig M.K., Pearson D.A., Au K.S. Tuberous sclerosis complex. [Updated: 2021]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1220>.
28. Huizing M., Malicdan M.C.V., Gochuico B.R., Gahl W.A. Hermansky-Pudlak syndrome. [Updated: 2021]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1287>.
29. Gatti R., Perlman S. Ataxia-telangiectasia. [Updated: 2016]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26468>.
30. Smith C.E., Berglöf A. X-linked agammaglobulinemia. [Updated: 2016]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1453>.
31. Allenspach E.J., Rawlings D.J., Petrovic A. et al. X-linked severe combined immunodeficiency. [Updated: 2021]. In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M. et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2023. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1410>.

### Информация об авторах

**Кондратьева Елена Ивановна** — д. м. н., профессор, врач высшей категории; зав. научно-клиническим отделом муковисцидоза, зав. кафедрой генетики болезней дыхательной системы Института высшего и дополнительного профессионального образования ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; зам. директора по науке ГБУЗ «Научно-исследовательский клинический институт детства» Министерства здравоохранения Московской области; тел.: (916) 255-33-85; e-mail: elenafpk@mail.ru (ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>)

**Шагина Ольга Анатольевна** — к. м. н., зав. лабораторией молекулярно-генетической диагностики № 1, ведущий научный сотрудник лаборатории ДНК-диагностики, доцент кафедры молекулярной генетики и биоинформатики Института высшего

и дополнительного профессионального образования ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; тел.: (903) 581-28-57; e-mail: schagina@med-gen.ru (ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4905-1303>)