

Генетическая гетерогенность менделирующих заболеваний и ДНК-диагностика

Поляков А.В., Шагина О.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»,
Москва, 115478, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: polyakov@med-gen.ru

В статье описаны типы генетической гетерогенности и причины ее существования на молекулярном уровне. Генетическая гетерогенность наследственных болезней сильно осложняет медико-генетическое консультирование и диктует необходимость оптимизации процедур ДНК-диагностики. Рассмотрены подходы к оптимизации ДНК-диагностики для групп заболеваний с различным типом наследования. Для аутосомно-доминантных и X-сцепленных заболеваний поиск мутаций в первую очередь проводится в «горячих» точках и «горячих» экзонах генов, ответственных за развитие патологии. При аутосомно-рецессивных заболеваниях необходимо исследование спектра мутаций в различных регионах РФ и создание регион-адаптированных диагностических протоколов, направленных на детекцию частых для региона мутаций простыми методами. Для генетически гетерогенных заболеваний, редких болезней, вызванных мутациями в генах большого размера и отсутствием частых мутаций необходимо применение методов массового параллельного секвенирования редких болезней, вызванных мутациями в генах.

Ключевые слова: генетическая гетерогенность, моногенные болезни, ДНК-диагностика

Генетическая гетерогенность

Наследственные болезни известны человечеству со времен Гиппократов, однако непосредственное изучение их причин началось лишь в XX веке после переоткрытия законов Менделя. На протяжении первых десятилетий XX века происходило накопление и анализ фактических данных по наследованию патологических признаков, пока в конце 80-х годов не был дан старт проекту «Геном человека» [1]. Одной из важнейших задач проекта явился поиск и идентификация генов, ответственных за наследственные болезни человека. Полное прочтение человеческого генома, завершившееся в 2003 году, открыло новую страницу в медицинской генетике и дало в руки исследователей новые «инструменты», позволяющие установить точную причину моногенных болезней. Новые знания о молекулярном потоке наследственных болезней поставили перед медицинскими генетиками сложнейшую задачу — поиск генетического дефекта в каждой конкретной семье с моногенной патологией [2]. Сложность задачи обусловлена тем, что практически для каждого наследственного заболевания открыто несколько генов, мутации которых являются причиной болезни [3].

Генетическая гетерогенность — явление, когда один и тот же патологический фенотип может быть обусловлен различными мутациями в одном и том же гене (аллельная гетерогенность) либо мутациями в различных генах (локусная гетерогенность). В настоящее время установлена генетическая гетерогенность практически для всех групп менделирующих наследственных болезней. В табл. 1 указано число известных на сегодняшний день генов, мутации которых ответственны за эпилепсии, мышечные дистрофии, кардиомиопатии и тугоухость.

Выраженная генетическая гетерогенность наследственных болезней привела к пересмотру классификации и созданию новой систематики, основанной на геномном принципе [4]. В данной систематике каждому варианту на основании картирования локуса и/или идентификации гена выделяется отдельный номер по каталогу Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Появление таких классификаций еще в 30-е годы XX века предвидел основоположник отечественной нейрогенетики С.Н. Давиденков. В своей книге «Проблема полиморфизма наследственных болезней нервной системы» он указывал, что рациональная классификация наследственных болезней должна быть «каталогом генов, а не фенотипических различий» [5]. В 1986 г. Т. Родерик предложил термин «геномика». По выражению В. Макьюсика — с окончанием проекта «Геном человека» медицинская генетика приобрела, свой объект исследования — геном, подобно тому, как у кардиологов им является сердечно-сосудистая, а у неврологов — нервная система [6].

Феномен генетической гетерогенности представляет огромный научный и практический интерес. На основании исследований проявлений моногенных заболеваний у больных со сходным клиническим фенотипом, обусловленным мутациями различных генов, можно проникнуть в суть молекулярного взаимодействия структурных и функциональных молекул и реализации их совместной работы на уровне организма [7]. Продукты генов, ответственные за возникновение генетически гетерогенной патологии, могут функционировать в одних и тех же тканях в качестве структурных белков, ферментов, обеспечивающих различные этапы катаболизма одних и тех же субстратов, являться транскрипционными факторами или быть звеньями сигнальной трансдук-

Число известных на сегодняшний день генов,
мутации которых ответственны за некоторые наследственные болезни

Группа болезней	Число генов	Суммарная протяженность кодирующей области (т.п.н.)
Эpileпсии	86	550 000
Мышечные дистрофии	64	400 000
Кардиомиопатии	176	800 000
Тугоухость	96	416 004

ции. Различить генетические варианты невозможно при клиническом, функциональном, а часто и биохимическом обследовании пациента [8, 9]. На рис. 1 представлено многообразие белков, экспрессирующихся в периферическом нерве, мутации в кодирующих эти белки генах приводят к фенотипу моторно-сенсорной нейропатии. Среди этих молекул есть структурные протеины осевого цилиндра: нейрофиламенты и микротрубочки, миелиновые протеины шванновских клеток, протеины щелевых соединений, белки мембраны митохондрий, ферменты и белки теплового шока.

Аллельная генетическая гетерогенность, проявляющаяся различиями фенотипа при мутациях одного гена, способна пролить свет на разнообразие функций этого гена и его продуктов во временном и пространственном континууме, а также их роль в метаболических сетях. В большинстве случаев аллельные варианты, обуслов-

ленные различными мутациями в одном и том же гене, характеризуются различной тяжестью единого по клиническим проявлениям заболевания. Различие тяжести клинических проявлений наследственного заболевания, как правило, обусловлено различием нарушений функционирования белкового продукта, связанного с типом мутации и её локализацией в гене [10]. С другой стороны, мутации некоторых генов вызывают совершенно различные по клиническим проявлениям болезни [11, 12]. Одна из причин феномена аллельной гетерогенности — нарушение тканеспецифического альтернативного сплайсинга гена и/или процессинга белка. Описано 11 генетических вариантов заболеваний, обусловленных мутациями в гене ламина (*LAMIN A/C*), которые относятся к четырем группам наследственных заболеваний: прогрессирующие мышечные дистрофии, невральные амиотрофии, липодистрофии и прогероидные синдро-

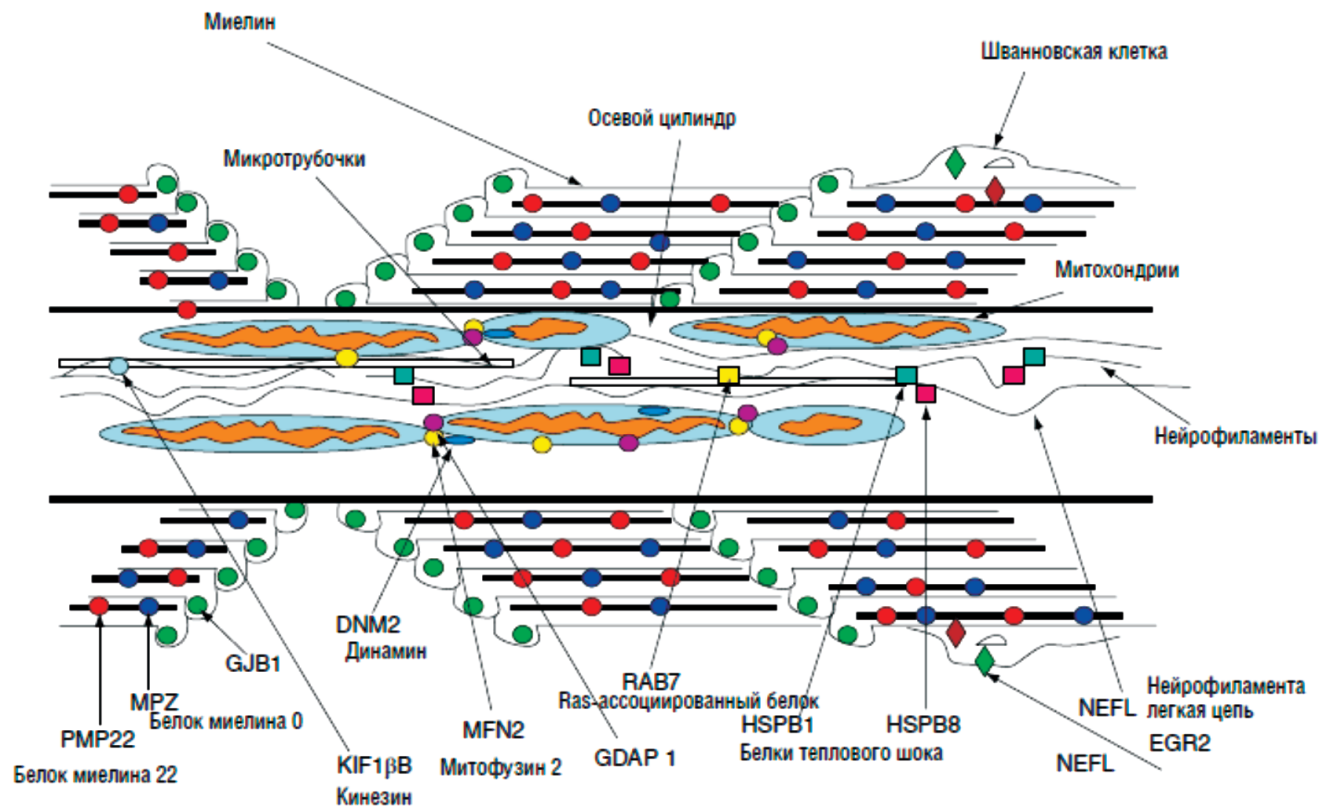


Рис. 1. Белки периферических нервов. Мутации в кодирующих эти белки генах приводят к наследственной моторно-сенсорной нейропатии.

мы. Мутации в гене ламина, обуславливающие возникновение синдромов преждевременного старения — прогерии и синдрома Гетчинсона—Гилфорда, нарушают процесс сплайсинга в области 3' конца гена, что приводит к изменению процессинга преламина и накоплению его в клетке [13]. Показано, что основная функция ламина в мышечной ткани — обеспечение правильной ориентации эмерина в ядерной оболочке, с которым он образует единый комплекс. Мутации, локализованные в участке ламина, обеспечивающем связь с эмерином, ответственны за аутосомно-доминантную форму мышечной дистрофии Эмери—Дрейфуса. В структуре ламина имеется и строго определенный участок, расположенный между аминокислотными остатками 227 и 487, необходимый для дифференцировки адипоцитов. Именно в этом участке белковой молекулы происходит взаимодействие ламина с белком SREBP1, являющимся транскрипционным фактором при дифференцировке адипоцитов. Мутации в гене ламина А/С, нарушающие аминокислотную последовательность указанного региона приводят к возникновению наследственных ламинопатий из группы липодистрофий [14].

ДНК-диагностика

В 1999 г. в лекции на ежегодной конференции Американского общества генетики человека А. Бодэ объявил о рождении геномной медицины, которую он определил как «рутинное генотипирование, чаще в форме ДНК-тестов, ради улучшения качества медицинской помощи» [15]. В настоящее время наиболее эффективно использование ДНК-тестов для диагностики моногенных болезней.

Моногенные болезни — это болезни, обусловленные мутациями в одном гене. Необходимым и достаточным условием возникновения клинического фенотипа моногенной болезни является наличие мутации в генотипе человека. Однако клинические проявления болезни могут зависеть от пола, возраста больного, а манифестация заболевания быть связана с неблагоприятными условиями внешней среды — травма, переохлаждение, интенсивные физические нагрузки. Данные болезни наследуются в соответствии с законами Г. Менделя и также называются *менделирующими болезнями*. На конец 2015 г. в базе данных OMIM описано 8202 клинических фенотипов, для 4761 из них известен молекулярный базис. Для большинства моногенных болезней характерна генетическая гетерогенность — за развитие одного и того же клинического фенотипа в неродственных семьях могут отвечать мутации различных генов. Среди моногенных болезней выделяют частые — встречаются с частотой более чем 1/10 000, — и редкие — частота менее 1/100 000. Каждый человек является носителем не менее пяти мутаций, не проявляющихся при наличии второй нормальной копии гена [16]. Именно моногенные болезни являются основным объектом ДНК-диагностики.

ДНК-диагностика — поиск генетической причины болезни на уровне изменений дезоксирибонуклеиновой кислоты. ДНК-диагностика направлена на поиск непосредственной причины наследственной болезни — мутации гена и является наиболее адекватным и точным методом диагностики моногенной патологии. Ее проведение возможно, даже если неизвестен патогенез болезни, но известен ген, который ее вызывает.

В зависимости от поставленных задач различают следующие виды ДНК-диагностики:

- подтверждающая — проводится исследование ДНК больного человека с целью определения непосредственной причины болезни;
- пресимптоматическая — исследуется ДНК клинически здоровых родственников больного, как правило, при наследственных болезнях с поздней манифестацией, таких, как хорей Гентингтона, болезнь Альцгеймера. Проведение данного вида диагностики возможно только при наличии желания и согласия совершеннолетнего родственника больного с целью планирования деторождения или для терапевтической коррекции рано выявленного генетического дефекта с целью минимизации клинических проявлений болезни;
- диагностика носительства — проводится здоровым родственникам больных с рецессивными заболеваниями с целью планирования деторождения;
- пренатальная диагностика — поиск мутации, ответственной за болезнь в семье, в материале плода — ворсинках хориона, амниотической жидкости, пуповинной крови на различных сроках беременности. Позволяет определить статус плода и решить вопрос о пролонгировании беременности на ранних сроках гестации;
- преимплантационная диагностика — исследование клеток эмбриона при экстракорпоральном оплодотворении с целью отбора зародышей, не несущих мутантный ген.

В зависимости от объекта исследования выделяют косвенную и прямую ДНК-диагностику. При косвенной ДНК-диагностике исследуют не непосредственную причину заболевания, а определяют наследование в семье участка хромосомы, несущей предположительно мутантный ген по аллелям генетических маркеров, лежащих в непосредственной близости от этого гена. Точность данного типа ДНК-диагностики — 95—99%, однако для его применения необходима уверенность в клиническом диагнозе и знание того, что за данный клинический фенотип могут быть ответственны мутации только одного гена. На сегодняшний день косвенная ДНК-диагностика применяется редко, т.к. практически для всех наследственных заболеваний доказана генетическая гетерогенность.

Прямая ДНК-диагностика направлена на поиск мутации, являющейся непосредственной причиной болезни. Точность такой диагностики составляет 100%. Возможно проведение прямой ДНК-диагностики при сомнительном диагнозе и при наличии нескольких локу-

сов заболевания. Прямая ДНК-диагностика позволяет диагностировать носительство мутации в семьях с моногенной патологией даже при отсутствии материала больного.

В лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» принята и реализуется в течение длительного времени концепция «ДНК-диагностика on-line». В основу этой концепции положен принцип возможности и необходимости разработки ДНК-диагностики для каждой конкретной семьи, позволяющей наиболее точно установить молекулярную причину болезни с наименьшими временными и материально-техническими затратами. Для реализации этой концепции проводятся исследования, позволяющие оптимизировать существующие протоколы ДНК-диагностики и разработать протоколы исследования генов редких наследственных патологий.

Для оптимизации ДНК-диагностики в рамках этой концепции разрабатываются следующие направления:

1. Картирование новых локусов и генов наследственных болезней;
2. Изучение аллельной гетерогенности доминантных и Х-сцепленных наследственных болезней с целью создания систем поиска мутаций в «горячих» участках гена;
3. Исследование частот и спектров мутаций генов, ответственных за рецессивные заболевания в различных регионах РФ;
4. Создание диагностических систем с использованием метода массового параллельного секвенирования для поиска мутаций в генах большого размера;
5. Изучение локусной гетерогенности различных групп наследственных болезней с целью формирования диагностических NGS-панелей;
6. Разработка алгоритмов клинико-молекулярно-генетического обследования больных.

Реализация концепции «ДНК-диагностика on-line»

После появления высокоразрешающих карт Genethon и Marshfield процедура картирования гена представляет собой дорогостоящее, трудоемкое, но рутинное исследование. Существуют подходы, позволяющие сократить время и стоимость работы по поиску новых локусов, например, анализ функциональных генов-кандидатов. В течение 20 лет в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» проводился сбор генеалогических и фенотипических данных и образцов биологического материала членов семей с наследственной моторно-сенсорной нейропатией (болезнью Шарко—Мари—Тут). Результатом работы явилось картирование двух новых локусов болезни Шарко—Мари—Тут и обнаружение трех генов, ответственных за развитие наследственной моторно-сенсорной нейропатии II типа, в том числе первого (*NEFL*) и гена наиболее частой формы НМСН2А (*MFN2*) [17–20].

Результатом изучения эндемичных рецессивных заболеваний, характерных для отдельных популяций РФ,

стало картирование генов чувашского остеопетроза и якутской метгемоглобинемии [21, 22]. Данные результаты легли в основу скрининговых протоколов обследования здорового населения. В 2008 г. запущена пилотная программа в Республике Чувашии по скрининговому исследованию супружеских пар детородного возраста на носительство мутации в гене *TCIRG1*, ответственной за развитие остеопетроза.

Исследования аллельной и локусной гетерогенности НМСН определили генетическую структуру этого заболевания у российских больных. Было установлено, что на гены *PMP22* и *MFN2* приходится наибольшее число мутаций при НМСН I и II типа соответственно. Наиболее частой причиной НМСН I у больных, проживающих на территории РФ, является дупликация гена *PMP22*. На долю этой мутации приходится 60% случаев заболевания. Для НМСН II типа установлена «горячая» точка — кодон 94 гена *MFN2* в котором локализовано 70% мутаций этого гена и 15% всех мутаций при НМСН II. Для обеих доминантных мутаций разработаны эффективные диагностические протоколы с высокой точностью и информативностью позволяющие детектировать данные изменения в генотипе больного [23, 24].

Исследования выборки больных с мышечной дистрофией Эмери—Дрейфуса позволило определить «горячие» экзоны гена *LAMINA/C*. Мутации в экзоне 4 были детектированы у 41% пробандов, а в экзоне 1 — у 27%. Таким образом, исследование только двух экзонов гена позволяет установить молекулярный дефект у 68% больных. Эти результаты способны существенно повысить эффективность и удешевить ДНК-диагностику мышечной дистрофии Эмери—Дрейфуса [25].

Проведены работы по исследованию частот и спектров мутаций в генах, ответственных за частые рецессивные болезни: муковисцидоз, фенилкетонурию, спинную мышечную амиотрофию, наследственную неиндуцируемую тугоухость. На основании полученных результатов были отобраны наиболее частые мутации, созданы и внедрены в практическую деятельность ФГБНУ «МГНЦ» высокоэффективные диагностические системы, позволяющие быстро и дешево проводить диагностику частых рецессивных болезней. Для создания системы диагностики фенилкетонурии (ФКУ) были отобраны восемь наиболее частых мутаций гена *PAH* — IVS12+1G>A (с.1315+1G>A), IVS10-11G>A (с.1066-11G>A), R252W (с.754C>T), P281L (с.842C>T), R261Q (с.782G>A), R158Q (с.473G>A), R408W (с.1222C>T), IVS4+5G>T (с.441+5G>T), на долю которых приходится 81% поврежденных хромосом. Разработан диагностический протокол с использованием мультиплексной лигазной реакции, позволяющий исследовать все эти изменения в одной пробирке [26]. Однако при исследовании природы ФКУ в отдельных популяциях РФ, например, у жителей Карачаево-Черкессии, информативность данной системы оказалась крайне низкой — 7%. При исследовании всей кодирующей по-

следовательности гена *PAH*, молекулярный дефект, ответственный за ФКУ был детектирован у 100% больных из этой республики и установлено, что основной причиной фенилкетонурии в данной популяции является мутация R261X, на долю которой приходится 70% поврежденных хромосом. Результаты данного исследования подтверждают необходимость исследования спектра мутаций при частых рецессивных болезнях в различных регионах РФ и создания регион-адаптированных диагностических протоколов.

Целый ряд достаточно частых моногенных болезней, таких, как мышечная дистрофия, Дюшена/Беккера (МДД/Б), болезнь Вильсона—Коновалова, синдром Марфана, имеют очень протяженные гены, что делает их прямую ДНК-диагностику очень дорогостоящей и трудоемкой. В последние несколько лет в научную деятельность внедряются технологии массового параллельного секвенирования (NGS, или секвенирование нового поколения). Однако для практического использования в диагностических целях данные технологии имеют целый ряд ограничений, связанных с недостаточной точностью данных за счет малого покрытия целевых регионов, дороговизной исследования и определением патогенности выявленных изменений.

Мышечная дистрофия Дюшена/Беккера является самой частой прогрессирующей мышечной дистрофией у мальчиков. Ген *DMD*, локализованный на X-хромосоме, является самым большим геном в геноме человека. Для детекции количественных мутаций гена *DMD* — делеций и дупликаций, на долю которых приходится 70—80% всех мутаций этого гена, разработаны высокоэффективные системы на основе метода количественной мультиплексной лигазной реакции. Данные системы позволяют не только подтвердить диагноз у больного, но и провести анализ носительства у родственниц больного, в том числе и беспробандную диагностику. Однако 20—30% мутаций гена *DMD* — точковые замены, детекция которых затруднительна из-за размеров гена. Для выявления точковых мутаций разработана диагностическая система с использованием метода массового параллельного секвенирования, позволяющая избирательно обогатить исследуемый материал целевыми фрагментами и провести несколько промежу-

точных контролей качества образцов, подлежащих NGS. В основу системы положена библиотека, содержащая 105 фрагментов, суммарной протяженностью кДНК 14 748 п.н., обеспечивающая покрытие четырех целевых генов мышечных дистрофий: *DMD*, *LMNA/C*, *FHL1*, *EMD*. В результате тестового использования данной системы в диагностике мышечных дистрофий получен результат для 34 образцов из 36, покрытие варьирует от x21 до x258. Мутации гена *DMD* выявлены у 11 пробандов, в одном образце выявлена ранее не описанная мутация гена *LMNA/C*. В настоящее время данная система внедрена в практическую работу лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ».

Для заболеваний, имеющих высокую локусную гетерогенность, а также редких болезней с большими генами необходимо проведение полноэкзомного исследования, с целью установления причины болезни в каждой конкретной семье. На сегодняшний день планируется создание NGS-панелей для диагностики целого ряда гетерогенных болезней: тугоухости, мышечных дистрофий, спастических параплегий, наследственных болезней органа зрения, эпилепсий, наследственных форм умственной отсталости, наследственных болезней крови, марфаноподобных синдромов, туберозного склероза. Кроме высокой стоимости исследований, основной проблемой данных протоколов является определение патогенности выявленных изменений. В табл. 2 приведены частоты мутаций и непатогенных изменений (полиморфизмов) для четырех крупных генов: *TTN*, *DMD*, *FBN1*, *GJB2*, приведенные по данным баз SNPNCBI [27] и HGMD [28].

Из таблицы видно, что в среднем на каждые 50 пар нуклеотидов приходится одна миссенс- или нонсенс-замена. Для решения вопроса о патогенности выявленных у пробанда замен должны использоваться семейный анализ, анализ баз данных, биоинформатический анализ влияния выявленных изменений на сплайсинг гена и конформацию белковой молекулы, функциональный анализ на модельных объектах.

Для оптимизации ДНК-диагностики и генетического консультирования каждой конкретной семьи по результатам исследования частот и спектров мутаций различных генов полилокусных заболеваний у жителей

Таблица 2

Частоты мутаций и непатогенных изменений (полиморфизмов) для четырех крупных генов

Ген	Протяженность	Полиморфизмы				Мутации			
		Синонимичные	Миссенс/нонсенс	Инсерции, делеции, сайт сплайсинга	Итого	Синонимичные	Миссенс/нонсенс	Инсерции, делеции, сайт сплайсинга	Итого
<i>TTN</i>	114 414	1915	5064 / -	842	13349	—	40	80	92
<i>DMD</i>	13 956	170	518 / -	209	47425	—	596	2402	2998
<i>FBN1</i>	11 756	209	504 / -	67	9968	—	1 070	591	1661
<i>GJB2</i>	2309	18	112 / -	16	472	—	266	89	355

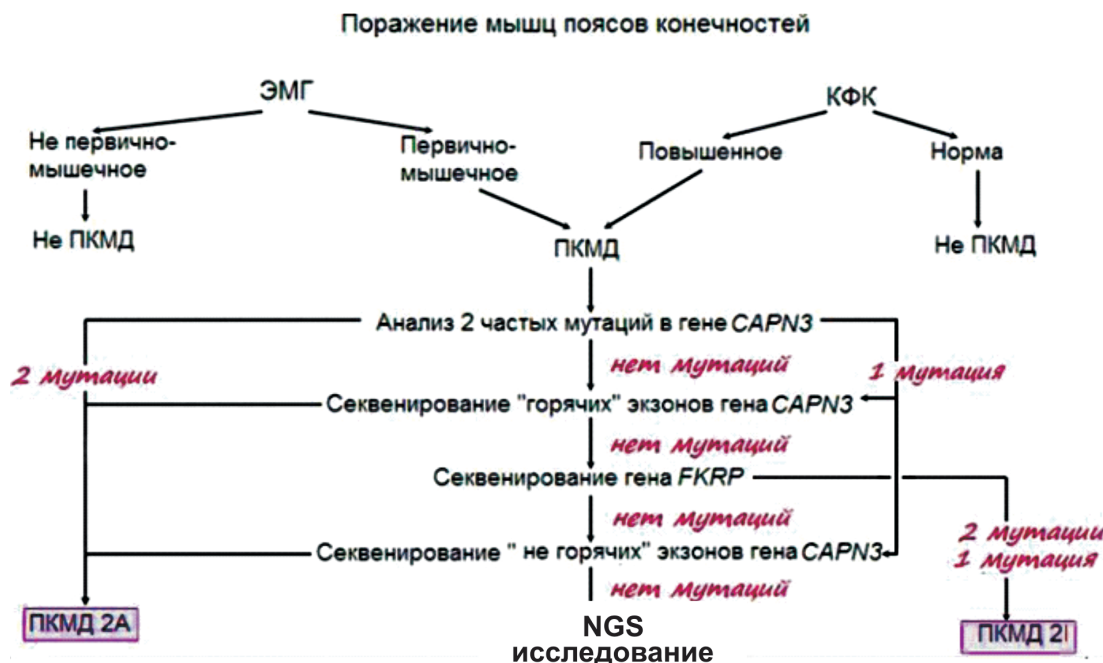


Рис. 2. Алгоритм клиничко-молекулярно-генетического обследования больного с поясно-конечностной мышечной дистрофией.

РФ создаются алгоритмы клиничко-молекулярно-генетического обследования [29, 30]. На рис. 2 в качестве примера приведен алгоритм клиничко-молекулярно-генетического обследования больного с поясно-конечностной мышечной дистрофией. В основу алгоритмов положены особенности клинических проявлений различных форм болезней, частоты встречаемости мутаций в различных генах и знания о спектрах мутаций каждого конкретного гена.

На сегодняшний день, если известен ген, ответственный за развитие болезни, возможна разработка ДНК-диагностики для каждой конкретной семьи. Только в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» разработаны протоколы и проводится ДНК-диагностика более чем 300 моногенных нозологических форм.

Заключение

На сегодняшний день в РФ функционируют несколько крупных центров, проводящих молекулярно-генетическое исследование широкого спектра моногенных болезней. Однако высокая суммарная частота наследственной патологии, необходимость качественного медико-генетического консультирования, невозможного без молекулярной верификации диагноза, необходимость планирования профилактических мероприятий в отягощенных семьях и ограничения, связанные с транспортировкой материала, диктуют необходимость создания широкой сети лабораторий ДНК-диагностики для молекулярно-генетического исследования частых наследственных болезней с использованием регионспецифических диагностических систем.

Список литературы

1. Human Genome Project Information Archive 1990-2003 [Internet]. U.S. Department of Energy Human Genome Project URL <http://www.ornl.gov/hgmis>. [updated 2016 May 10, cited 2016 May 10] Available from: http://web.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/index.shtml
2. Гинтер Е.К., Иллариошкин С.Н. Достижения генетики и геномики в неврологии. Вестник РАМН. 2012;(8):14-20.
3. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) [Internet]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [updated 2016 May 10, cited 2016 May 10] Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
4. Пузырев В.П. Медицинская патогенетика. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014; (1):7-21
5. Давиденков С.Н. Проблема полиморфизма наследственных болезней нервной системы. — Л.: Изд-во ВИЭМ, 1934. с. 139
6. Mc Kusick V.A. A 60-year tale of spots, map sand genes. Annu. Rev. Genom. Hum. Genet. 2006;(7): 1-27
7. Дадали Е.Л., Гинтер Е.К., Поляков А.В. Генетическая гетерогенность и некоторые другие проблемы, осложняющие ДНК-диагностику наследственных болезней нервной системы. Нервно-мышечные болезни. DOI: 10.17650/2222-8721-2012-0-1-11-18 2012; (1):11-18
8. Boerkoel CF, Takashima H, Garcia CA et al. Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies: mutation distribution and genotype-phenotype correlation. *Ann Neurol*. 2002; 51(2):190-201.
9. Keller MP, Chance PE. Inherited neuropathies: from gene to disease. *Brain Pathol* 1999; 9:327-41.
10. Тверская С.М., Чухрова А.Л., Дадали Е.Л. и др. Разнообразие клинических проявлений моногенных наследственных заболеваний, обусловленных мутациями в одном гене. 2007;(6):3-11
11. Руденская Г.Е., Тверская С.М., Чухрова А.Л. и др. Разнообразие болезней, обусловленных мутациями гена LMNA. 2004; (3):.69-76.
12. Aebi U, Cohn J, Buchle L et al. The nuclear lamina is a meshwork of intermediate filament type filaments. *Nature* 1986; (323):560-4

13. Young S.G., Meta M., Yang S.H., Fong L.G. Prelamin A farnesylation and progeroid syndromes. *J. Biol. Chem.* 2006; 281(52):39741-5
14. Maidment SL, Ellis JA. Muscular dystrophies, dilated cardiomyopathy, lipodystrophy and neuropathy: the nuclear connection. *Expert Rev Mol Med.* 2002 30;4(17):1-21
15. Beaudet AL. Making genomic medicine a reality. *Am. J. Hum. Genet.* 1999; (64): 1-13
16. Наследственные болезни: национальное руководство. Под ред. Бочкова Н.П., Гинтера Е.К., Пузырева В.П. — М.: ГЭ-ОТАР-Медиа; 2012.
17. Mersiyanova IV, Perepelov AV, Polyakov AV et al. A new variant of Charcot-Marie-Tooth disease type 2 is probably the result of a mutation in the neurofilament-light gene. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(1):37-46
18. Ismailov SM, Fedotov VP, Dadali EL et al. A new locus for autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 2 (CMT2F) maps to chromosome 7q11-q21. *Eur J Hum Genet.* 2001; 9(8):646-50
19. Zuchner S, Mersiyanova IV, Muglia M et al. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat Genet.* 2004; 36 (5):449-51
20. Evgrafov OV, Mersiyanova I, Irobi J et al. Mutant small heat-shock protein 27 causes axonal Charcot-Marie-Tooth disease and distal hereditary motor neuropathy. *Nat Genet.* 2004; Jun;36(6):602-6
21. Bliznetz EA, Tverskaya SM, Zinchenko RA et al. Genetic analysis of autosomal recessive osteopetrosis in Chuvashiya: the unique splice site mutation in TCIRG1 gene spread by the founder effect. *Eur J Hum Genet.* 2009; May; 17(5) :664-72
22. Галеева Н.М., Ненашева С.А., Клейменова И.С., Поляков А.В. Новая крупная делеция с.22-1320_633+1224del в гене CYB5R3 у больных наследственной метгемоглобинемией // Генетика. 2012; Nov; 48 (11):1336-46.
23. Миловидова Т.Б. Клинико-молекулярно-генетический анализ наследственной моторно-сенсорной нейропатии I типа: Дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук. — М., 2011.
24. Шагина О.А., Дадали Е.Л., Федотов В.П., Поляков А.В. Спектр мутаций в гене MFN2 у больных наследственной моторно-сенсорной нейропатией ПА типа. *Медицинская генетика.* 2006; 5 (9): 21-27
25. Адян Т.А., Руденская Г.Е., Дадали Е.Л. и др. Мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса: молекулярно-генетические, фенотипические характеристики и дифференциальная диагностика. *Медицинская генетика.* 2014; 13(10): 3-13
26. Степанова А.А., Гаврилюк А.П., Тверская С.М., Поляков А.В. Анализ наиболее часто встречающихся мутаций в гене фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией. *Медицинская генетика.* 2003; 2 (4): 175-181
27. Database of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and multiple small-scale variations that include insertions/deletions, microsatellites, and non-polymorphic variants [Internet]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [updated 2016 May 10, cited 2016 May 10]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
28. The Human Gene Mutation Database [Internet]. Institute of Medical Genetics in Cardiff [updated 2016 May 10, cited 2016 May 10]. Available from: <http://www.hgmd.cf.ac.uk>
29. Шагина О.А., Дадали Е.Л., Федотов В.П., Поляков А.В. Клинико-молекулярно-генетический анализ наследственных аксонопатий, обусловленных нарушением формирования хондриома. Сб. материалов конференции «Генетика человека и патология». 2007; (8):206-210.
30. Дадали Е.Л., Шагина О.А., Рыжкова О.П. и др. Особенности клинических проявлений поясно-конечностной прогрессирующей мышечной дистрофии типа 2А у российских больных. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2010;110(4):79-83

Информация о конфликте интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Genetic heterogeneity of Mendelian disorders and DNA-diagnostics

Polyakov A.V., Shchagina O.A.

Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics»,
115409, Moscow, Moskvorechie 1, e-mail: polyakov@med-gen.ru

The concept of genetic heterogeneity of hereditary diseases is discussed in the article in details. It describes the types of genetic heterogeneity and its reasons at the molecular level. The most appropriate approach for the diagnosis of hereditary diseases is DNA diagnostics. The main purpose of DNA diagnostics is the determination of the causal mutation in a particular family. The types of DNA diagnostics, depending on the methodological approaches are considered. However, genetic heterogeneity of hereditary diseases complicates the medical genetic counseling of each family. So the optimization of the DNA diagnostic procedures is needed. The approaches for the optimization of DNA diagnostic for diseases groups with different types of inheritance are considered. Mutations searching in the «hot» spots and «hot» exons in genes responsible for the pathology development is essential for autosomal dominant and X-linked disorders. For the autosomal recessive diseases, it is necessary to study the mutation spectrum in various regions of the Russian Federation and to create region-adapted diagnostic protocols aimed at detecting of common mutations by simple methods. For diseases with a broad genetic heterogeneity, large size genes and in the case of absence of frequent mutations it is necessary to use next-generation sequencing methods. The basic points of the «DNA diagnosis on-line» concept implemented in DNA diagnostics laboratory of Research Centre for Medical Genetics to identify the molecular causes of monogenic diseases in burdened families are described.

Keywords: genetic heterogeneity, genetic testing, genetic disorders