

Применение экзомного секвенирования для диагностики наследственных моторно-сенсорных нейропатий

О.А. Щагина, О.П. Рыжкова, А.Л. Чухрова, Т.Б. Миловидова, П. Гундорова, О.Л. Миронович,
А.А. Орлова, М.Д. Орлова, А.В. Поляков

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Ольга Анатольевна Щагина schagina@dnalab.ru

Введение. Наследственные моторно-сенсорные нейропатии — обширная генетически-гетерогенная группа наследственных болезней, при которых клинический фенотип обусловлен тем или иным поражением периферических нервов.

Цель исследования — оценить размах генетической гетерогенности наследственных моторно-сенсорных нейропатий у российских больных и диагностическую эффективность использования полноэкзомных методов исследования для поиска генетической причины наследственных моторно-сенсорных нейропатий.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 51 больного и членов их семей, обратившихся за экзомным секвенированием в лабораторию ДНК-диагностики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова» в 2017–2019 гг. Методы: полноэкзомное секвенирование, секвенирование по Сенгеру, метод анализа полиморфизма длин амплификационных фрагментов.

Результаты. Используя экзомное секвенирование в сочетании с анализом сегрегации патогенных вариантов, удалось установить причину болезни в семьях у 41 % пациентов. Еще у 16 % выявлены кандидатные генетические варианты, являющиеся возможной причиной заболевания, однако для подтверждения этого необходимы дополнительные исследования, которые по решению семей не были проведены. Наиболее часто (в 6 неродственных семьях) выявлены мутации гена MFN2, в 2 семьях — гена MPZ, в 2 — AARS, по 1 случаю — GJB1, HINT1, INF2, LRSAM1, LITAF, MME, NEFL, WWOX. Среди причинных вариантов были выявлены мутации генов, отвечающих за спастическую параплегию (B4GALNT1), врожденную мышечную дистрофию Бетлема (COL6A1), миастению (SYT2), что свидетельствует о трудностях дифференциальной диагностики наследственных нервно-мышечных заболеваний. В 2 семьях до проведения полноэкзомного секвенирования (WES) была детектирована дупликация на хромосоме 17.

Выводы. Экзомные методы исследования очень важны для поиска молекулярной причины наследственной моторно-сенсорной нейропатии. Для уточнения патогенности вариантов, выявленных при экзомном секвенировании, в большинстве случаев необходимо использовать дополнительные методы. Однако, несмотря на их высокую информативность, следует помнить, что наиболее частой причиной болезни является крупная дупликация региона 17p11.2.

Ключевые слова: наследственная моторно-сенсорная нейропатия, болезнь Шарко–Мари–Тута, полноэкзомное секвенирование, наследственная периферическая нейропатия

Для цитирования: Щагина О.А., Рыжкова О.П., Чухрова А.Л. и др. Применение экзомного секвенирования для диагностики наследственных моторно-сенсорных нейропатий. Нервно-мышечные болезни 2020;10(4):12–26.

DOI: 10.17650/2222-8721-2020-10-4-12-26



Diagnostic utility of exome sequencing for inherited peripheral neuropathies

O.A. Shchagina, O.P. Ryzhkova, A.L. Chukhrova, T.B. Milovidova, P. Gundorova, O.L. Mironovich,
A.A. Orlova, M.D. Orlova, A.V. Poliakov

Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115522, Russia

Introduction. Hereditary motor and sensory neuropathies, a highly genetic heterogeneous group of disorders, have a phenotype caused by peripheral nerve damage.

Purpose of the study — to assess the extent of genetic heterogeneity of hereditary motor and sensory neuropathies in Russian patients and to evaluate the diagnostic effectiveness of using full-exome research methods to find the genetic cause of hereditary motor and sensory neuropathies.

Materials and methods. The material for the study was DNA samples from 51 patients and their family members referred for whole exome sequencing to the DNA-diagnostics laboratory of Research Centre for Medical Genetics in 2017–2019. Methods: whole exome sequencing, Sanger sequencing, restriction fragment length polymorphism.

Results. Whole exome sequencing in combination with segregation analysis of the pathogenic variants in families allowed to determine the cause of the disease in 41 % of cases. In another 16 % of cases, candidate genetic variants as a possible cause of the disease were revealed, but additional studies are needed to confirm it. The most frequently mutated gene was MFN2 caused neuropathy in 6 unrelated families. MPZ gene mutations were detected in two families, AARS gene mutations were revealed in another two families, and mutations in GJB1,

HINT1, INF2, LRSAM1, LITAF, MME, NEFL, WWOX were detected once. Among the causal variants, mutations in B4GALNT1 caused spastic paraplegia, in COL6A1 led to Bethlem's congenital muscular dystrophy, and in SYT2 caused congenital myasthenic syndrome indicating difficulties in differential diagnosis of inherited neuromuscular disorders. A PMP22 duplication was detected in 2 families prior to whole exome sequencing.

Conclusion. *Whole exome sequencing is very important for finding the molecular cause of hereditary motor and sensory neuropathies. In most cases, additional methods should be used to clarify the pathogenicity of variants detected by whole exome sequencing. However, it is necessary to remember that the most common cause of the disease is a large duplication of the region 17p11.2.*

Key words: *hereditary motor and sensory neuropathy, HMSN, Charcot–Marie–Tooth disease, CMT, whole exome sequencing, WES, inherited peripheral neuropathy*

For citation: *Shchagina O.A., Ryzhkova O.P., Chukhrova A.L. et al. Diagnostic utility of exome sequencing for inherited peripheral neuropathies. Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases 2020;10(4):12–26. (In Russ).*

Введение

Наследственные моторно-сенсорные нейропатии (НМСН), или болезнь Шарко–Мари–Тута (Charcot–Marie–Tooth disease, CMT), – группа наследственных заболеваний периферической нервной системы с выраженной гетерогенностью клинических проявлений, типов наследования и причинных генов. Распространенность в европейских странах колеблется от 1:5 тыс. до 1:10 тыс. населения [1].

«Классический» фенотип НМСН, как правило, проявляется слабостью дистальных отделов конечностей, потерей чувствительности, деформаций стопы по типу поллой или стопы Фридрейха. У большинства больных признаки заболевания проявляются на 1-м или 2-м десятилетии жизни и нарастают с возрастом. Однако описано много форм, при которых манифестация болезни происходит на 1-м году жизни и, наоборот, в 5–6-й декадах. По электрофизиологическим критериям долгое время было принято выделять миелопатию (НМСН I) со скоростью проведения импульса (СПИ) по срединному нерву ≤ 38 м/с и аксонопатию (НМСН II) – СПИ > 38 м/с. По мере накопления клинических и электрофизиологических данных была выделена промежуточная форма НМСН с СПИ от 25 и 45 м/с. В последние годы в группу аксональных НМСН были включены не только моторно-сенсорные нейропатии, но и фенотипы с преобладанием моторного поражения – наследственные моторные нейропатии или дистальные спинальные атрофии и фенотипы с преобладанием вегетативных нарушений – наследственные сенсорные нейропатии. Сегодня в зарубежной литературе для обозначения всего многообразия форм наследственных периферических полинейропатий применяют термины *CMT and related disorders* (болезнь Шарко–Мари–Тута и подобные ей заболевания) и *inherited peripheral neuropathies*, или IPN (наследственные периферические нейропатии) [2]. В данной работе мы будем использовать для обозначения исследуемого заболевания привычный термин «наследственная моторно-сенсорная нейропатия».

На сегодняшний день описано уже более 80 генов, ответственных за НМСН. Кроме того, для целого ряда генов характерно наличие сразу нескольких

неврологических фенотипов, одним из которых является периферическая полинейропатия (см. рисунок).

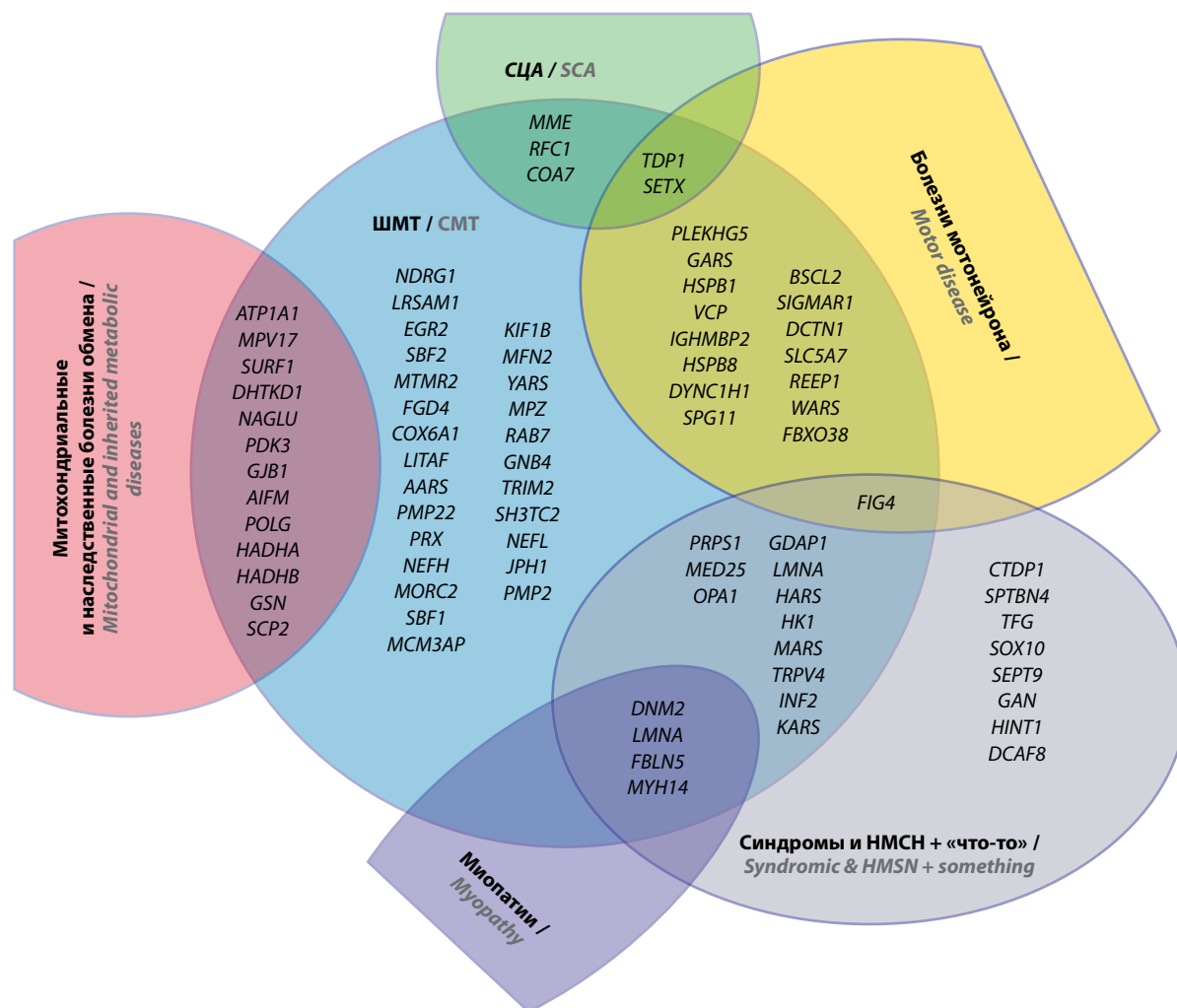
При таком разнообразии генетических причин и большом числе пересекающихся фенотипов после исключения наиболее частой причины болезни – дупликации на хромосоме 17, включающей ген *PMP22*, на долю которой приходится 60 % случаев НМСН I, очевидным методом диагностики является экзомное секвенирование. В табл. 1 суммированы результаты полноэкзомного секвенирования (WES) выборок больных с НМСН из разных стран.

Таблица 1. Результаты экзомного секвенирования выборок больных с периферическими нейропатиями

Table 1. Exome sequencing results for different inherited peripheral neuropathy's cohorts

Страна Region	Число обследованных семей Number of families in the study	Выявлено мутаций (всего (% от числа обследованных семей)) The identified mutations (in total (% of the investigated families number))
Австралия [3] Australia [3]	110	41 (37)
Канада [4] Canada [4]	50	12 (24)
Австрия, Германия, Бельгия [5] Austria, Germany, Belgium [5]	27	8 (29)
США [6] USA [6]	37	17 (45)

Как видно из табл. 1, эффективность полноэкзомного секвенирования колеблется от 24 до 45 %. Связано это в большей степени с полнотой предварительного молекулярно-генетического обследования пробандов. Так, в работе М. Schabhuüttl и соавт. были отобраны больные из 3 стран, которым на более ранних этапах проведен поиск мутаций в 10 наиболее частых генах, а в работе С. Gonzaga-Jauregui и соавт. у большинства



Клинико-генетическое разнообразие наследственных моторно-сенсорных нейропатий. Фигуры разных цветов — фенотипы; курсивом обозначены все гены, варианты которых приводят к наследственным периферическим нейропатиям по данным OMIM на середину 2019 г. ШМТ — болезнь Шарко—Мари—Тута; болезни мотонейрона — наследственные болезни, связанные с поражением мотонейрона: наследственные моторные нейропатии, боковой амиотрофический склероз, дистальные спинальные атрофии; СЦА — спиноцеребеллярные атаксии; синдромы — синдромы, сопровождающиеся периферической нейропатией; НМСН + «что-то» — синдромальные формы наследственных моторно-сенсорных нейропатий. Clinical and genetic diversity of inherited motor-sensory neuropathies. Different colors of figures indicate different phenotypes. Italics indicate all genes, variants of which lead to inherited peripheral neuropathies according to OMIM data for mid-2019. CMT — Charcot—Marie—Tooth disease; motor disease — hereditary diseases associated with motoneurone damage: neuropathy, distal hereditary motor, amyotrophic lateral sclerosis, spinal muscular atrophy, distal; SCA — spinocerebellar ataxia; syndromic & HMSN + something — syndromes accompanied by peripheral neuropathy and syndromic forms of Charcot—Marie—Tooth disease

больных до проведения экзомного секвенирования была исключена лишь дупликация гена *PMP22* [5, 6].

В данной работе представлены результаты экзомного секвенирования и последующего обследования 51 неродственного пробанда с клиническим диагнозом НМСН, обратившихся за экзомным секвенированием в лабораторию ДНК-диагностики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова» в 2017—2019 гг.

Материалы и методы

Проведено исследование 51 неродственного пробанда: 22 женщин и 29 мужчин в возрасте от 3 до 57 лет.

Среди обследованных 39 человек были единственными больными в семье, 10 — семейных с доминантным типом наследования болезни и в 2 случаях не было информации о родословной. У 8 больных по данным электронейромиографии была выявлена миелинопатия, у 28 — аксонопатия, у 10 — промежуточный характер поражения периферических нервов и о 5 больных данные электронейромиографии исследования не были предоставлены. На 1-м этапе всем пробандам вне зависимости от полноты обследований, проведенных до направления на экзомное секвенирование, был выполнен поиск самой частой мутации — 1.4-МВ дупликации на хромосоме 17, включающей ген *PMP22*

с использованием мультиплексной полимеразной цепной реакции системы маркеров DUP4 и DUP5, локализованных в области дупликации с применением праймеров: DUP4F – GGCAAAAATGGGCAATTCTTGTCTC, DUP4R – GAAATAACCATAACATAATAAAGGCC, DUP5F – TGAACACATTTGGCTTTGAAACAAC, DUP5R – TTATCCAAAGAGTTGTCTACTAGAAC. Для визуализации результатов использовался вертикальный электрофорез в полиакриламидном геле.

Экзомный анализ ДНК пациентов проведен на секвенаторе нового поколения Illumina NextSeq 500 методом парно-концевого чтения (2 × 75 пар оснований). Для пробоподготовки у 35 пробандов была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям около 20 тыс. генов (набор Illumina TruSeqR ExomeKit и IDT xGenR Exome Research Panel), у 14 пробандов – методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям 6640 генов, описанных на данный момент как клинически значимые (набор SeqCap EZ HyperCap Workflow). Обработка данных секвенирования проведена с использованием стандартного автоматизированного алгоритма, предлагаемого Illumina, для анализа данных использовано фирменное программное обеспечение BaseSpace Sequence Hub (Illumina, США).

Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные выборки проектов «1000 геномов», ESP6500 и The Genome Aggregation Database v2.1.1. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, база данных по патогенным вариантам HGMD® Professional версия 2019.4 и данные литературы.

Для оценки патогенности выявленных при экзомном секвенировании вариантов был проведен анализ сегрегации в 22 семьях методом прямого автоматического секвенирования по Сенгеру целевых участков конкретных генов.

Оценка патогенности и причинности генетических вариантов проводилась в соответствии с международными рекомендациями по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования [7].

Результаты

Клинические, электрофизиологические данные, результаты экзомного секвенирования и последующего сегрегационного анализа по всем исследованным пробандам представлены в табл. 2.

У 2 неродственных пробандов, направленных на экзомное секвенирование, при предварительном анализе была выявлена дупликация гена *PMP22*, диагноз подтвержден, и массовое параллельное секвенирование им не проводилось. Оба пробанда имели типичную клиническую и электронейромиографическую картину демиелинизирующей формы НМЧН.

Как видно из табл. 2, в 22 случаях из 51 были выявлены патогенные и вероятно патогенные варианты, которые, наиболее вероятно, являются причиной заболевания в семье. В 20 случаях такие варианты были выявлены при исследовании экзома, а в 2 случаях – при предварительном поиске частой мутации.

Для уточнения патогенности некоторых вариантов был проведен семейный анализ и доказана неслучайная сегрегация выявленного варианта в семье с полинейропатией, *de novo* статус варианта или трансположение выявленных мутаций.

Наиболее частой причиной НМЧН, выявляемой при экзомном секвенировании 6 неродственных семей, оказались мутации гена *MFN2*, ответственного за НМЧН ПА2. Этот результат не вызывает удивления, так как данная форма является наиболее частой среди аксонопатий, на ее долю приходится 25 % случаев этой формы болезни [8, 9].

В 2 семьях с миелинопатией были выявлены мутации гена *MPZ*, ответственного за НМЧН IB. По ранее полученным в лаборатории ДНК-диагностики данным этот ген тоже является нередкой причиной миелинопатий, на его долю приходится до 9 % случаев этой формы НМЧН [10].

Неожиданно в 2 случаях были выявлены различные мутации гена *AARS*, ответственного за НМЧН IIN типа. Данная форма наследственной полинейропатии была впервые описана в 2010 г. [11]. И до сих пор нет данных о высокой распространенности, описаны лишь единичные случаи.

Было выявлено по 1 случаю мутаций в других частых генах периферических нейропатий – *GJB1* (НМЧН IX), *HINT1* (нейромиотония и аксональная нейропатия) [12, 13]. Небольшая доля таких форм, выявленных при экзомном исследовании, объясняется тем, что НМЧН, связанные с этими генами, имеют свои характерные особенности – X-сцепленная родословная для *GJB1* и миотонические феномены для *HINT1*, а гены имеют небольшой размер и доступно более дешевое их исследование методом секвенирования по Сенгеру.

Из редких генетических вариантов НМЧН были выявлены мутации в генах *INF2* (НМЧН доминантная, промежуточная E), *LRSAM1* (НМЧН IP), *LITAF* (НМЧН IC), *MME* (НМЧН IT).

Кроме того, используя алгоритм Illumina для анализа данных, удалось выявить протяженную делецию на хромосоме 8, включающую ген *NEFL* (НМЧН IE), а при анализе покрытия целевых генов – делецию экзона 2 в гене *WWOX* (эти мутации были валидированы референсными методами). Необходимо отметить, что метод экзомного секвенирования не приспособлен для обнаружения таких мутаций – данные находки являются случайностью.

Среди причинных вариантов были выявлены мутации генов, отвечающих за спастическую параплегию,

Таблица 2. Клинические, электрофизиологические данные, результаты молекулярно-генетического анализа
Table 2. Clinical and electrophysiological data, results of molecular analysis

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of manife- station	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis					Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation	Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)	
Выявлена дупликация на хромосоме 17 Duplication on chromosome 17										
1	HMSN HMSN	Миели- нопатия Myelino- pathy	—	Детский Childhood	PMP22	DUP	het	—	PAT	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 1A Charcot–Marie–Tooth disease, type 1A
2	HMSN HMSN	Миели- нопатия Myelino- pathy	1	30	PMP22	DUP	het	—	PAT	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 1A Charcot–Marie–Tooth disease, type 1A
Диагноз подтвержден молекулярно–генетическими методами The diagnosis was confirmed by molecular genetic methods										
3	HMSN HMSN	Проме- жуточ- ный Interme- diate	6	Детский Childhood	INF2 NM_022489.4	c.271C>G (p.Arg91Gly)	het	Да Yes	PAT (PS4 PM1 PM2 PP2 PP3)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, доминантный промежуточный E Charcot–Marie–Tooth disease, dominant Intermediate E
4	HMSN HMSN	Аксоно- патия Axono- pathy	8	20–30	LRS4M1 NM_001005374.3	c.2047-1G>A	het	Да Yes	PAT (PVS1 PS4 PM2 PP3)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2P Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2P
5	HMSN HMSN	Миели- нопатия Myelino- pathy	2	53	LITAF NM_001136472.1	c.348G>C (p.Trp116Cys)	het	Выявлена у бессим- птомного сына (27 лет) и больной мамы Detected in an as- ymptomatic son (27 years old) and a sick mother	LPAT (PM1 PM2 PM5 PP3 BS2)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 1C Charcot–Marie–Tooth disease, type 1C

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of manife- station	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis					Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)	Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation			
6	НМСН HMSN	Аксонопатия Axonopathy	2	Детский Childhood	<i>MFN2</i> NM_001127660	c.638T>C (p.Ile213Thr)	het	Да Yes	LRAT (PM1 PM2 PM5 PP2 PP3 PP5)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2A2A Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2A2A	
7	НМСН HMSN	Аксонопатия Axonopathy	3	Детский Childhood	<i>MFN2</i> NM_001127660	c.281G>A (p.Arg94Gln)	het	Да Yes	RAT (PS4 PM1 PM2PM5 PP2 PP3 PP4 PP5)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2A2A Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2A2A	
8	НМСН HMSN	Аксонопатия Axonopathy	1	Детский Childhood	<i>MFN2</i> NM_001127660	c.280C>T (p.Arg94Trp)	het	–	RAT (PM1 PM2 PM5 PP2 PP3 PP4 PP5)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2A2A Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2A2A	
9	НМСН HMSN	–	–	–	<i>MFN2</i> NM_001127660	c.775C>T (p.Arg259Cys)	het	–	RAT (PM1 PM2 PM5 PP2 PP3 PP5)	Болезнь Шарко–Мари – Тута, тип 2A2A Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2A2A	
10	НМСН HMSN	Аксонопатия Axonopathy	1	Детский Childhood	<i>MFN2</i> NM_001127660	c.1146_1148delGGC (p.Ala383del)	het	Родственники не доступны. Выявлен у новоро- жденного сына Relatives are not available. Detected in a newborn son	LRAT (PM1 PM2 PM4 PP3)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2A2A Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2A2A	
11	НМСН HMSN	Аксонопатия Axonopathy	1	Детский Childhood	<i>MFN2</i> NM_001127660	c.263T>A (p.Ile88Asn)	het	–	LRAT (PM1 PM2 PP2 PP3 PP4)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2A2A Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2A2A	
12	НМСН HMSN	Миелинопатия Myelinopathy	1	Младенче- ский infancy	<i>MPZ</i> NM_000530.8	c.499G>A (p.Gly167Arg)	het	–	RAT (PS1 PS4 PM1 PM2 PM5 PP2 PP3 PP5)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 1B Charcot–Marie–Tooth disease, type 1B	

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of mani- festa- tion	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis					Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)	Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation			
13	НМСН HMSN	Миели- нопатия Myelino- pathy	5	Детский Childhood	<i>MPZ</i> NM_000530.8	c.223G>A (p.Asp75Asn)	het	Да Yes	RAT (PS4 PM1 PM2 PM5 PP2 PP3 PP4)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 1B Charcot–Marie–Tooth disease, type 1B	
14	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Interme- diate	4	Детский Childhood	<i>GJB1</i> NM_001097642.2	c.86T>C (p.Phe29Ser)	hem	Да Yes	RAT (PS4; PM1; PM2; PM5; PP2; PP3)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, X-сцепленная, доминантная 1 Charcot–Marie–Tooth neuropathy, X-linked dominant, 1	
15	НМСН HMSN	–	1	60	<i>AARS</i> NM_001605.2	c.332A>G (p.Lys111Arg)	het	Не выявлена у здоровых родственников Not detected in healthy relatives	LPAT (PS4 PM2 PP3 PP4 BPI)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2N Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2N	
16	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Interme- diate	4	Детский Childhood	<i>AARS</i> NM_001605.2	c.2738G>A (p.Gly913Asp)	het	Да Yes	LPAT (PS4 PM2 PP3 PP4 BPI)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2N Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2N	
17	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Interme- diate	1	Детский Childhood	<i>HINT1</i> NM_005340.7	c.110G>C (p.Arg37Pro)	homo	Родители- гетерозиготы Parents are heterozygotes	RAT (PS3 PM1 PM3 PP2 PP3)	Нейромиотония и ак- сональная нейропатия рецессивная Neuromyotonia and axonal neuropathy, autosomal recessive	
18	НМСН/дСМА HMSN/dSMA	Аксонопатия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>MME</i> NM_007288.3	c.1914+1G>A; c.1946T>C (p.Ile649Thr)	compound	Транс-поло- жение In trans position	RAT (PVS1 PM2 PP3); LPAT (PM1 PM2 PM3 PP2 PP3)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2T Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2T	
19	НМСН HMSN	Аксонопатия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>NEFL</i>	chr8:24,771,268– 24,814,014 DEL (под- тверждена XMA) chr8:24,771,268–24,814,014 DEL (confirmed by CMA)	het	–	LPAT (PVS1 PM2)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2E Charcot–Marie–Tooth disease, type 2E	

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of mani- festa- tion	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis					Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)	Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation			
20	НМСН HMSN	Аксонопатия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>SYT2</i> NM_177402.5	c.917C>T (p.Ser306Leu)	het	<i>de novo</i>	LPAT (PS2 PM2 PP3)	Миастенический синдром врожденный, 7, пресинаптический Myasthenic syndrome, congenital, 7, presynaptic	
21	НМСН? Повы- шение КФК (1260 Ед/л) HMSN? high CK (1260 U/l)	Аксонопатия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>COL6A1</i> NM_001848.3	c.903+1G>T	het	<i>de novo</i>	PAT (PVS1 PS2 PM2 PP3 PP5)	Миопатия Бетлема, 1 Bethlem myopathy 1	
22	НМСН? ПМД? Спастическая параличия? HMSN? LGMD? Spastic paraplegia?	Аксонопатия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>B4GALNT1</i> NM_001478.5	c.1514G>C (p.Arg505Pro)	homo	Родители гетерозиготы Parents are heterozygotes	LPAT (PS4 PM2 PP3 PP4)	Спастическая параличия 26, аутосомно-рецессивная Spastic paraplegia 26, autosomal recessive	
Выявлены кандидатные варианты Candidates variants were identified											
23	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Inter- mediate	1	Детский Childhood	<i>ИИОХ</i> NM_016373.4	c.[310C>T (p.Arg104Trp); 411G>T]; [(EX2del)] DEL EX2 подтверждена ХМА cis/трансположение с комплексным аллелем неизвестно c.[310C>T (p.Arg104Trp); 411G>T]; [(EX2del)] DEL EX2 confirmed by CMA cis/trans position with complex allele unknown	?	c.310C>T и c.411G>T выявлены у отца c.310C>T and c.411G>T were found in the father	VUS; PAT	Спинаocerebellарная атакия аутосомно-рецес- сивная 12? Spinocerebellar ataxia, autosomal recessive 12?	
24	НМСН HMSN	Аксонопатия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>AAAS</i> NM_015665.6	c.787T>C (p.Ser263Pro)	het	—	VUS (PP2 PP3 PP5)	Синдром ахалазия—адди- сонизм—алакримия? Achalasia—addisonianism — alacrimia syndrome?	
25	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Inter- mediate	1	Детский Childhood	<i>GDAP1</i> NM_018972.4	c.715C>T (p.Leu239Phe); c.695-29T>C	compound	Транслоко- вание In trans position	PAT (PM1 PM2 PP2 PP3 PP5); VUS (PM2 PM3 BP4)	Болезнь Шарко—Мари— Тута, тип 4А? Charcot—Marie—Tooth disease, type 4A?	

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of mani- festa- tion	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis					Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)	Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation			
26	НМСН с атрофи- ей дисков зри- тельных нервов HMSN with optic atrophy	—	1	Детский Childhood	<i>FDXR</i> NM_001258012.4	c.17G>A (p.Trp6Ter); c.979C>T (p.Arg327Cys)	compraund	Трансло- жение In trans position	PAT (PVS1 PM2 PP3); VUS (PM2 PP3 BP1)	Аудиторная нейропатия и атрофия зрительного нерва? Auditory neuropathy and optic atrophy?	
27	НМСН? Мышеч- ная дистрофия? HMSN? Muscular dystrophy?	—	1	Детский Childhood	<i>COL12A1</i> NM_004370.6	c.2962A>G (p.Thr988Ala)	het	—	VUS (PM2 BP1 BP4)	Миопатия Бетлема 2? Bethlem myopathy 2?	
28	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Inter- mediate	4	20–30	<i>HARS</i> NM_002109.6	c.1141G>A (p.Gly381Arg)	het	—	VUS (PM2 PP3 BP1)	Болезнь Шарко–Мари– Тута, тип 2W? Charcot–Marie–Tooth disease, axonal, type 2W?	
29	НМСН? дСМА? ПКМД? HMSN? dSMA? LGMD?	Аксон- патия Axono- pathy	1	40–50	<i>LDB3</i> NM_007078.3	c.1187G>A (p.Arg396Gln)	het	—	VUS (PM2 PP3 BP1)	Миофибриллярная мио- патия, 4? Myopathy, myofibrillar, 4?	
30	НМСН? СМА? HMSN? SMA?	Аксон- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>DCAF8</i> NM_015726.4	c.407T>C (p.Leu136Pro)	het	Выявлен у необсле- дованной мамы Detected in an untreated mother	VUS (PM2 PP3 BS2)	Нейропатия гигантских аксонов 2, аутосомно- доминантная? Giant axonal neuropathy 2, autosomal dominant?	
Вероятной причины болезни не выявлено The probable cause of the disease was not revealed											
31	НМСН HMSN	Аксон- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>KARS</i> NM_001130089.1	c.375C>G	het	Нет данных No data	1 вариант в АР гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
32	НМСН HMSN	Проме- жуточ- ный Inter- mediate	1	Детский Childhood	<i>ENO3</i> NM_053013.4	c.88C>T (p.Arg30Ter)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of manife- station	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis						Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation	Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)		
33	НМСН HMSN	Миели- нопатия Myelino- pathy	1	50	<i>MME</i> NM_007288.3	c.1040A>G (p.Tyr347Cys)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
34	НМСН HMSN	Аксону- патия Axono- pathy	1	30	<i>GAN</i> NM_001377486.1	c.642G>A (p.Met1Ile)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
35	НМСН HMSN	Аксону- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>SH3TC2</i> NM_024577.4	c.505T>C (p.Tyr169His)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
					<i>MED25</i> NM_030973.3	c.1004C>T (p.Ala335Val)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
36	НМСН с атро- фией зрительных нервов HMSN with the optic atrophy	Аксону- патия Axono- pathy	1	Взрослый Adult	<i>OPA1</i> NM_130835.2	c.1146A>G (Ile382Met)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
37	НМСН? Миотония? HMSN? Myotonia?	Аксону- патия Axono- pathy	1	30	<i>IGHMBP2</i> NM_002180.3	c.2317G>A, (p.Gly773Arg)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
38	НМСН HMSN	Аксону- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	<i>IGHMBP2</i> NM_002180.3	c.165G>C (p.Gln55His)	het	Нет данных No data	1 вариант в АР-гене One variant in AR gene	Не установлен Not defined	
39	НМСН? СМА? HMSN? SMA?	Аксону- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined	

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of manife- station	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular genetic analysis					Диагноз Diagnosis
					Ген Gene	Вариант(ы) Variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation	Патогенность (критерии ACMG) Pathogenicity (ACMG criteria)	
40	НМСН? ПКМД? HMSN? LGMD?	Аксон- патия Axono- pathy	1	20	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
41	НМСН HMSN	Миел- нопатия Myelino- pathy	1	40–50	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
42	НМСН HMSN	Миел- нопатия Myelino- pathy	1	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
43	НМСН HMSN	Проме- жуточный Inter- mediate	2	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
44	НМСН HMSN	Аксон- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
45	НМСН HMSN	Проме- жуточный Inter- mediate	1	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
46	НМСН? Спастическая паралетия HMSN? Spastic paraplegia	Аксон- патия Axono- pathy	1	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined
47	НМСН HMSN	Аксон- патия Axono- pathy	1	50–60	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined

N	Клинический диагноз Clinical diagnosis	ЭНМГ ENMG	Число больных Number of patients	Возраст начала Age of manife- station	Результаты молекулярно-генетического анализа Results of molecular-genetic analysis					
					Ген Gene	Вариант(ы) variant(s)	Зиготность Zygosity	Сегрегация Segregation	Патогенность (критерии АСМГ) Pathogenicity (ACMG criteria)	Диагноз Diagnosis
48	НМСН HMSN	Аксонопатия Axono- pathy	1	40–50	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined	
49	НМСН HMSN	Аксонопатия Axono- pathy	1	10	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined	
50	НМСН HMSN	Миелитопатия Myelino- pathy	1	Детский Childhood	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined	
51	НМСН с атрофией зрительных нервов HMSN and optic atrophy	—	1	10	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	Не установлен Not defined	

Примечание. ЭНМГ — электронейромиография; АСМГ — Американский колледж молекулярной генетики; НМСН — наследственная моторно-сенсорная нейропатия; РАТ — патогенный; het — гетерозиготное состояние; homo — гомозиготное состояние; compound — компаунд-гетерозиготное состояние варианта(ов); LPAT — вероятно-патогенный; SMA — спинальная мышечная атрофия; dSMA — дистальная спинальная мышечная атрофия; KFK — креатинфосфокиназа; VUS — вариант неопределенного клинического значения — патогенность вариантов согласно критериям АСМГ; ПКМД — поясно-конечностная мышечная дистрофия.

Note. ENMG — electroneurotomygraphy; ACMG — American College of Medical Genetics; HMSN — hereditary motor and sensory neuropathy; PAT — pathogenic; het — heterozygote; homo — homozygote; compound — compound heterozygotes; LPAT — likely pathogenic; SMA — spinal muscular atrophy; dSMA — spinal muscular atrophy, distal; CK — creatine kinase; VUS — variant of uncertain clinical significance — pathogenicity of variants according to ACMG criteria; LGMD — muscular dystrophy, limb-girdle.

врожденную мышечную дистрофию Бетлема, миастению, что свидетельствует о трудностях дифференциальной диагностики наследственных нервно-мышечных заболеваний.

В 8 случаях были выявлены кандидатные варианты, которые, вполне вероятно, могут являться причиной заболевания, но необходимы дополнительные подтверждающие факторы: анализ сегрегации, функциональный анализ — данные исследования не были проведены по решению семей больных в силу различных причин.

В 21 семье не было выявлено вероятной причины болезни. В 6 семьях определялись гетерозиготные патогенные и вероятно патогенные варианты в генах с аутосомно-рецессивным типом наследования. Однако выявление такого варианта не является молекулярно-генетическим подтверждением болезни. Кроме того, при анализе экзомных данных носительство вариантов в рецессивных генах нервно-мышечных болезней в гетерозиготном состоянии было выявлено и в 5 семьях, где молекулярный диагноз был установлен в дополнение к патогенным/вероятно патогенным вариантам в доминантных генах.

Обсуждение

Таким образом, мы оценивали диагностическую ценность полноэкзомных методов исследования в когорте пациентов с клиническим диагнозом НМСН. Всем больным был проведен также поиск дупликации на хромосоме 17. Некоторым больным до направления на экзомное секвенирование был выполнен поиск мутаций в других частых генах, ответственных за НМСН. Необходимо подчеркнуть, что описываемая в данной работе группа больных не была специально сформированной выборкой, а представляла когорту пациентов, направленных на экзомное секвенирование с диагнозом НМСН, поэтому нередкими находками были мутации в частых генах, ответственных за развитие периферических нейропатий.

Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на то что экзомное секвенирование — дорогостоящее и долгое исследование, а при НМСН описана частая мутация, ответственная за 60 % случаев миелопатий, которая может быть детектирована простыми, быстрыми и дешевыми методами, на диагностику методом массового параллельного секвенирования часто направляются больные без предварительного исследования дупликаций. Детекция делеций и дупликаций протяженностью более 15 пар нуклеотидов является ограничением метода экзомного секвенирования. Несмотря на то что некоторые вариации числа копий генов, в том числе и дупликации 17p11.2, могут быть выявлены у больного с использованием специальных целевых методов анализа экзомных данных, данный поиск не проводится рутинно при каждом исследовании экзома. При отсутствии предваритель-

ного целевого поиска дупликаций данные пациенты с высокой долей вероятности остались бы без молекулярно-генетически подтвержденного диагноза после проведения экзомного секвенирования.

Используя экзомные методы исследования в сочетании с сегрегационным анализом, молекулярную причину заболевания удалось установить в 41 % случаев НМСН, в качестве причины которых была исключена дупликация на хромосоме 17, что согласуется с данными исследователей из других стран.

Еще в 16 % случаев выявлены кандидатные генетические варианты, выступающие возможной причиной заболевания, однако для подтверждения этого необходимы дополнительные исследования, которые по решению семей не были проведены.

В 6 % случаев были выявлены причинные мутации в генах, ответственных за нервно-мышечные заболевания, патогенез которых отличается от периферических полинейропатий, — врожденная мышечная дистрофия, миастения, наследственная спастическая параплегия. Данный феномен может быть связан как с трудностями дифференциальной диагностики на клиническом этапе обследования больных, так и с многообразием пересекающихся фенотипов при мутациях в различных генах нервно-мышечных болезней.

Причина болезни при экзомном секвенировании выявлялась практически в одинаковом проценте случаев при различных электронейромиографических типах полинейропатий: в 43 % случаев — миелопатий с исключенной дупликацией гена *PMP22*, в 44 % случаев — промежуточных НМСН и в 41 % случаев — аксонопатий.

В семейных случаях болезни чаще, чем в散发ических, выявляется молекулярная причина болезни. Из 10 семейных случаев НМСН в 8 выявлен патогенный/вероятно патогенный вариант, еще в 1 случае выявлен кандидатный вариант и лишь в 1 случае ничего не выявлено.

Среди 33 случаев манифестации заболевания в детском возрасте (до 10 лет) причина полинейропатии при экзомном исследовании установлена в 16 (48 %) случаях, еще в 6 (18 %) — найден кандидатный вариант, в то время как при манифестации во взрослом и подростковом возрасте (15 случаев) причина болезни найдена у 3 (20 %) пробандов и кандидатный вариант — у 2 (13 %) пробандов. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей и могут быть обусловлены многообразием генетических и негенетических причин полинейропатий у взрослых пациентов.

Заключение

Экзомные методы исследования очень важны для поиска молекулярной причины генетически-гетерогенных моногенных болезней, к которым относится НМСН. Данные методы позволяют не только получить

информацию о генотипе в настоящем времени, но и проводить повторные анализы по мере накопления информации о новых причинных генах.

Для уточнения патогенности вариантов, выявленных при экзомном секвенировании, в большинстве случаев необходимо использовать дополнительные методы: секвенирование по Сенгеру для определения сегрегации, количественные методы анализа для подтверждения случайно выявленных крупных перестроек, функциональный анализ для доказательства влияния варианта на работу протеина.

При подозрении на НМСН, особенно при низких скоростях проведения импульса, необходимо помнить, что наиболее частой причиной болезни является крупная дупликация региона 17p11.2, обнаружение которой при секвенировании экзома практически невозможно, так как данный метод имеет свои ограничения по ти-

пам мутаций. Для детекции дупликации существуют простые, дешевые и надежные методы.

На сегодняшний день для диагностики НМСН все чаще предлагают использовать панели генов, основанные на методе массового параллельного секвенирования. Однако представляется маловероятным, что какая-либо специфическая панель когда-нибудь охватит все гены периферических нейропатий, да и максимальные панели по своей стоимости и трудоемкости анализа сопоставимы с аналогичными параметрами клинического экзома. С другой стороны, если учитывать полученные нами результаты, у достаточно большого числа семей болезнь связана с хорошо известными, хотя и достаточно большими генами, такими как митохондриальный *MTF1*. Исследование всей последовательности этих генов секвенированием по Сенгеру — достаточно трудоемкая задача.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Barreto L.C.L.S., Oliveira F.S., Nunes P.S. et al. Epidemiologic study of Charcot-Marie-Tooth disease: a systematic review. *Neuroepidemiology* 2016;46(3):157–65. DOI: 10.1159/000443706. PMID: 26849231.
2. Baets J., Timmerman V. Inherited peripheral neuropathies: a myriad of genes and complex phenotypes. *Brain* 2011;134(6):1587–90. DOI: 10.1093/brain/awr114.
3. Drew A.P., Zhu D., Kidambi A. et al. Improved inherited peripheral neuropathy genetic diagnosis by whole-exome sequencing. *Mol Genet Genomic Med* 2015;3(2):143–54. DOI: 10.1002/mgg3.126. PMID: 25802885.
4. Hartley T., Wagner J.D., Warman-Charbon J. et al. Whole-exome sequencing is a valuable diagnostic tool for inherited peripheral neuropathies: Outcomes from a cohort of 50 families. *Clin Genet* 2018;93(2):301–9. DOI: 10.1111/cge.13101. PMID: 28708278.
5. Schabhüttl M., Wieland T., Senderek J. et al. Whole-exome sequencing in patients with inherited neuropathies: outcome and challenges. *J Neurol* 2014;(261):970–82. DOI: 10.1007/s00415-014-7289-8. PMID: 24627108.
6. Gonzaga-Jauregui C., Harel T., Gambin T. et al. Exome sequence analysis suggests that genetic burden contributes to phenotypic variability and complex neuropathy. *Cell Rep* 2015;12(7):1169–83. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.07.023. PMID: 26257172.
7. 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):405–23. DOI: 10.1038/gim.2015.30. PMID: 25741868.
8. Шагина О.А., Дадали Е.Л., Федотов В.П., Поляков А.В. Спектр мутаций в гене *MFN2* у больных наследственной моторно-сенсорной нейропатией II А типа. *Медицинская генетика* 2006;5(9):21–6. [Shchagina O.A., Dadali E.L., Fedotov V.P., Polyakov A.V. The spectrum of mutations in the *MFN2* gene in patients with hereditary motor-sensory neuropathy type II A. *Medicinskaya genetika* = Medical genetics 2006;5(9):21–6. (In Russ.)].
9. Дадали Е.Л., Шагина О.А., Федотов В.П. Клинико-генетические особенности моторно-сенсорной нейропатии IIA типа. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2007;1(4):10–5. [Dadali E.L., Shchagina O.A., Fedotov V.P. Clinical and genetic features of type IIA motor-sensory neuropathy. *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy nevrologii* = Annals of Clinical and Experimental Neurology 2007;1(4):10–5. (In Russ.)].
10. Миловидова Т.Б., Дадали Е.Л., Федотов В.П. и др. Клинико-генетические корреляции при наследственной моторно-сенсорной нейропатии, вызванной мутациями в гене *MPZ* (P0). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2011;111(12):48–55. [Milovidova T.B., Dadali E.L., Fedotov V.P. et al. Clinical-genetic correlations in the hereditary motor-sensory neuropathy caused by mutations in the *MPZ* (P0) gene. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova* = S.S. Korsakov journal of neurology and psychiatry 2011;111(12):48–55. (In Russ.)].
11. Latour P., Thauvin-Robinet C., Baudet-Méry C. et al. A major determinant for binding and aminoacylation of tRNAAla in cytoplasmic alanyl-tRNA synthetase is mutated in dominant axonal charcot-marie-tooth disease. *Am J Hum Genet* 2010;86(1):77–82. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.12.005. PMID: 20045102.
12. Shchagina O.A., Milovidova T.B., Murtazina A.F. et al. *HINT1* gene pathogenic variants: the most common cause of recessive hereditary motor and sensory neuropathies in Russian patients. *Mol Biol Rep* 2020;(47):1331–7. DOI: 10.1007/s11033-019-05238-z.
13. Дадали Е.Л., Никитин С.С., Курбатов С.А. и др. Клинико-генетические характеристики аутосомно-рецессивной аксональной нейропатии с нейромиотонией у больных из России. *Нервно-мышечные болезни* 2017;7(3):47–55. [Dadali E.L., Nikitin S.S., Kurbatov S.A. et al. Clinical and genetic characteristics of autosomal recessive axonal neuropathy with neuromyotonia in Russian patients. *Nervno-myshechnye bolezni* = Neuromuscular diseases 2017;7(3):47–55. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2222-8721-2017-7-3-47-55.

Вклад авторов

О.А. Шагина: разработка дизайна исследования, формирование когорты больных, проведение валидации методом секвенирования по Сенгеру, написание текста рукописи;
 О.П. Рыжкова, А.Л. Чухрова, Т.Б. Миловидова, П. Гундорова, О.Л. Миронович: проведение всех этапов полноэкзомного секвенирования, анализ и интерпретация полученных данных;
 М.Д. Орлова: анализ дупликаций, секвенирование по Сенгеру, проведение всех этапов полноэкзомного секвенирования, анализ и интерпретация полученных данных;
 А.В. Поляков: подбор последовательностей праймеров и проб, использованных в данной работе.

Authors' contributions:

O.A. Shchagina: design of the study, formation of a patient's cohort, validation by Sanger sequencing, manuscript preparation;
 O.P. Ryzhkova, A.L. Chukhrova, T.B. Milovidova, P. Gundorova, O.L. Mironovich: exome sequencing and data analysis;
 M.D. Orlova: PMP22 duplication analysis, Sanger sequencing, exome sequencing and data analysis;
 A.V. Poliakov: primers and probes design.

ORCID авторов / ORCID authors'

О.А. Шагина / O.A. Shchagina: <https://orcid.org/0000-0003-4905-1303>
 О.П. Рыжкова / O.P. Ryzhkova: <https://orcid.org/0000-0003-1285-9093>
 А.Л. Чухрова / A.L. Chukhrova: <https://orcid.org/0000-0002-5474-4713>
 Т.Б. Миловидова / T.B. Milovidova: <https://orcid.org/0000-0002-0050-6947>
 П. Гундорова / P. Gundorova: <https://orcid.org/0000-0001-8703-7997>
 О.Л. Миронович / O.L. Mironovich: <https://orcid.org/0000-0003-0351-1271>
 А.А. Орлова / A.A. Orlova: <https://orcid.org/0000-0002-8831-1844>
 М.Д. Орлова / M.D. Orlova: <https://orcid.org/0000-0002-3743-094X>
 А.В. Поляков / A.V. Poliakov: <https://orcid.org/0000-0002-0105-1833>

Благодарности. Авторы выражают благодарность научному сотруднику ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова» А.Ф. Муртазиной за исправления в процессе подготовки рукописи.

Gratitude. Authors express their gratitude to the researcher of Research Centre for Medical Genetics A.F. Murtazina for corrections during the preparation of the manuscript.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова».

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russia for Research Centre for Medical Genetics.

Информированное согласие. От всех исследованных пациентов, членов их семей или их законных представителей было получено информированное согласие на проведение исследования и публикацию результатов работы на условиях анонимности.

Informed consent. Written informed consent was obtained for genetic examination and publication with anonymity from all patients or their legal representatives.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова» (протокол № 2016-6/7 от 2016 г.).

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study protocol was approved by the local ethic committee of the Research Centre for Medical Genetics (protocol 2016-6/7 dates 2016).

Статья поступила: 17.04.2020. **Принята к публикации:** 24.11.2020.

Article submitted: 17.04.2020. **Accepted for publication:** 24.11.2020.