

Клинические рекомендации по диагностике первичной цилиарной дискинезии

По материалам: Lucas J.S., Barbato A., Collins S.A., Goutaki M., Behan L., Caudri D., Dell Sh., Eber E., Escudier E., Hirst R.A., Hogg C., Jorissen M., Latzin Ph., Legendre M., Leigh M.W., Midulla F., Nielsen K.G., Omran H., Papon J.-F., Pohunek P., Redfern B., Rigau D., Rindlisbacher B., Santamaria F., Shoemark A., Snijders D., Tonia Th., Titieni A., Walker W.T., Werner C., Bush A., Kuehni C.E. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. Eur. Respir. J. 2017; 49 (1): 1601090. DOI: 10.1183/13993003.01090-2016

Резюме

Диагноз первичной цилиарной дискинезии (ПЦД) обычно подтверждается с помощью стандартных, но сложных и дорогостоящих исследований. Однако в большинстве случаев диагностика остается трудной, несмотря на множество сложных тестов, при этом «золотой стандарт» диагностики ПЦД отсутствует. В связи с этим Рабочей группой при поддержке Европейского респираторного общества разработаны и опубликованы клинические рекомендации, в которых содержатся доказательные данные о диагностике ПЦД, особенно с учетом новых сведений и необходимости точной диагностики для больных, включенных в рандомизированные клинические исследования. В клинических рекомендациях освещены отдельные вопросы клинического ведения лиц с ПЦД, содержатся систематический обзор литературы и оценка доказательств по системе Градации рекомендаций, анализа, разработки и оценки (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation – GRADE*). Обсуждаются клинические проявления заболевания, особенности измерения назального оксида азота; анализируются частота и паттерн биения ресничек с использованием высокоскоростного видеомикроскопического анализа, трансмиссионной электронной микроскопии, генотипирования и иммунофлюоресцентного анализа. Для разработки алгоритма диагностики ПЦД, предназначенного для надежного подтверждения либо исключения диагноза, использован модифицированный метод Дельфи. В клинических рекомендациях предложен набор критериев качества диагностических тестов для ПЦД для будущих исследований. Дополнительные материалы представлены на сайте erj.ersjournals.com

Ключевые слова: первичная цилиарная дискинезия, диагностика, назальный оксид азота, частота биения ресничек, высокоскоростной видеомикроскопический анализ, трансмиссионная электронная микроскопия, генотипирование.

Для цитирования: Клинические рекомендации по диагностике первичной цилиарной дискинезии. *Пульмонология*. 2017; 27 (6): 705–731. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-6-705-731

Clinical guidelines for diagnosis of primary ciliary dyskinesia

Adopted from: Lucas J.S., Barbato A., Collins S.A., Goutaki M., Behan L., Caudri D., Dell Sh., Eber E., Escudier E., Hirst R.A., Hogg C., Jorissen M., Latzin Ph., Legendre M., Leigh M.W., Midulla F., Nielsen K.G., Omran H., Papon J.-F., Pohunek P., Redfern B., Rigau D., Rindlisbacher B., Santamaria F., Shoemark A., Snijders D., Tonia Th., Titieni A., Walker W.T., Werner C., Bush A., Kuehni C.E. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. Eur. Respir. J. 2017; 49 (1): 1601090. DOI: 10.1183/13993003.01090-2016.

Abstract

The diagnosis of primary ciliary dyskinesia is often confirmed with standard, albeit complex and expensive, tests. In many cases, however, the diagnosis remains difficult despite the array of sophisticated diagnostic tests. There is no “gold standard” reference test. Hence, a Task Force supported by the European Respiratory Society has developed this guideline to provide evidence-based recommendations on diagnostic testing, especially in light of new developments in such tests, and the need for robust diagnoses of patients who might enter randomised controlled trials of treatments. The guideline is based on pre-defined questions relevant for clinical care, a systematic review of the literature, and assessment of the evidence using the GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation) approach. It focuses on clinical presentation, nasal nitric oxide, analysis of ciliary beat frequency and pattern by high-speed video-microscopy analysis, transmission electron microscopy, genotyping and immunofluorescence. It then used a modified Delphi survey to develop an algorithm for the use of diagnostic tests to definitively confirm and exclude the diagnosis of primary ciliary dyskinesia; and to provide advice when the diagnosis was not conclusive. Finally, this guideline proposes a set of quality criteria for future research on the validity of diagnostic methods for primary ciliary dyskinesia.

This article has supplementary material available from erj.ersjournals.com

Key words: primary ciliary dyskinesia, diagnosis, nasal nitric oxide, ciliary beat frequency, high-speed video-microscopy, transmission electron microscopy, genotyping.

For citation: Clinical guidelines for diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (6): 705–731 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-6-705-731

Первичная цилиарная дискинезия (ПЦД) представляет собой клинически и генетически гетерогенную группу патологических изменений реснитчатого эпителия респираторного тракта (цилиопатий) со снижением мукоцилиарного клиренса дыхательных

путей. Диагностика данного заболевания затруднена мутациями, которые приводят к развитию различных клинико-патологических состояний. «Золотой стандарт» диагностики ПЦД в настоящее время отсутствует [1]. Сегодня при подтверждении диаг-

ноза ПЦД требуется сочетание нескольких технически сложных исследований, включая измерение назального оксида азота (nNO), высокоскоростной видеомикроскопический анализ (ВВА) и трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия (ПЭМ). Ранее клиницистами использовался сахаринный тест для скрининга ПЦД, который в настоящее время не рекомендуется [2]. Напротив, все более доступными становятся сложные диагностические тесты, которые могут повысить точность диагноза (генотипирование, иммуноферментный анализ (ИФА) цилиарного белка, электронно-микроскопическая томография).

Доступность диагностических тестов в странах Европы разная [3], но в последние годы они получают все большее распространение благодаря сотрудничеству предшествующей Рабочей группы (2006–2009) Европейского респираторного общества (*European Respiratory Society – ERS*) [2–4] и рамочной Программы (FP)-7 при поддержке фонда BESTCILIA. В 2009 г. Рабочей группой ERS опубликован консенсус [2] по диагностике ПЦД. Недавно фондом BESTCILIA предоставлены диагностические тестовые системы в 3 европейских страны, где эта служба до того времени отсутствовала. После 2009 г. точность разных диагностических тестов для ПЦД изучалась многими группами и ассоциациями, что позволило разработать доказательные рекомендации по их применению. В связи с этим в 2014 г. создана новая Рабочая группа ERS, состоящая из пульмонологов, детских пульмонологов, ЛОР-врачей и исследователей. Целью ее создания явилось написание доказательных клинических рекомендаций по диагностике ПЦД. Это важно для правильного ведения больных и прогнозирования течения заболевания, а также во избежание случаев ложноположительного диагноза. Перед включением больных в рандомизированные клинические исследования также следует подтвердить диагноз ПЦД.

Методы

Методы, использованные при написании данных рекомендаций, подробно описаны в дополнительных материалах (Приложении) на сайте erj.ersjournals.com

Состав Рабочей группы

Рабочая группа представлена клиницистами и учеными многих специальностей с опытом диагностики ПЦД, а также молодыми сотрудниками аффилированных медицинских центров Европы, занимающихся диагностикой ПЦД (табл. S1, см. Приложение). Соответствие рекомендаций системе GRADE [5] обеспечивалось методистом ERS. Члены Рабочей группы сообщали о потенциальном конфликте интересов в соответствии с политикой ERS в начале совместной работы и перед публикацией данного документа.

Значимые для пациента результаты

В системе GRADE акцент сделан на важности разработки рекомендаций, опирающихся на значимые

для больного результаты [6]. По мнению пациентов, также включенных в Рабочую группу, уточнение диагноза ПЦД является значимым для них, поскольку сопряжено с более глубоким пониманием проблем пациентов их лечащим врачом, при этом здоровье и качество жизни таких больных улучшаются. Это мнение подтверждено при анкетировании больных ПЦД ($n = 352$) из 25 стран и подробном распросе ($n = 20$) [7]. Однако при исследовании диагностической точности тестов прямых доказательств того, что при использовании новых методов диагностики улучшаются значимые для больного показатели, не получено; следовательно, диагностическая точность данных тестов может быть признана в лучшем случае умеренной.

Формулировка тем и вопросов

Члены Рабочей группы пришли к соглашению, что следует проанализировать по крайней мере 6 аспектов диагностики ПЦД: клинические симптомы, nNO, ВВА, ПЭМ, генотипы и ИФА-маркировку цилиарных белков. Эксперты ERS оценивали каждый тест относительно возможности его включения в диагностический поиск при ПЦД, используя метод PICO: подозрение на наличие ПЦД, тесты (nNO, ПЭМ и т. д.), сравнение больных с положительными и отрицательными результатами и анализ диагностической точности тестов. Результаты PICO для каждого теста обсуждались во время нескольких телеконференций и дискуссий (табл. S2, см. Приложение).

В исследования должны быть включены больные, направленные для диагностики ПЦД, у которых в итоге диагноз ПЦД был подтвержден либо исключен (обязательный критерий включения исследования в анализ). Исследования с участием больных с подтвержденным ранее диагнозом ПЦД исключались из анализа. При отсутствии исследований, соответствующих критериям включения, обсуждались исследования случай–контроль, в которых сравнивались показатели больных ПЦД с таковыми у здоровых добровольцев или больных, страдающих другими бронхолегочными заболеваниями (например, муковисцидозом). Результаты таких исследований нельзя применять для дифференцировки больных ПЦД и другими заболеваниями, но с похожими жалобами. Таким образом, результаты исследований случай–контроль мало подходят для клинической практики. Основным недостатком написания данного документа было отсутствие «золотого стандарта» диагностики ПЦД. В этой ситуации экспертами сравнивались индикаторы диагностической значимости (например, чувствительность и специфичность) с окончательным решением авторов публикаций о подтверждении / исключении диагноза ПЦД по результатам всех доступных тестов.

Эксперты Рабочей группы также согласились с перечнем дополнительных вопросов по диагностике ПЦД, отобранных для обсуждения. Поскольку ответы на эти вопросы не были формально оценены по системе GRADE, они не включены в данные рекомендации.

Методы поиска литературы

Поиск литературы проводился в базах данных *Medline* и *Embase* с 01.01.96 по 14.03.16. Подробное описание представлено в Приложении. При этом вкратце просматривались названия и тезисы статей, после чего анализировался полный текст статьи, которая соответствовала критериям включения. Членами Рабочей группы проанализирована полнота текста статьи и изложение всех необходимых данных. На диаграмме PRISMA представлен процесс поиска литературы каждой секцией Рабочей группы (рис. S1, см. Приложение).

Качество доказательств и сила рекомендаций

В течение всего процесса разработки рекомендаций использовали систему GRADE для оценки качества доказательств и силы рекомендаций [8, 9]. Подробности описаны в дополнительном материале, включая причины занижения оценки в некоторых случаях. В основу рекомендаций положена их сила и другие факторы, например общая точность теста (чувствительность и специфичность), уверенность в точности теста (разброс чувствительности / чувствительность по результатам включенных исследований

и / или доверительные интервалы общей чувствительности и специфичности), соответствие отобранных больных примененному тесту, доступность и приемлемость теста. Все 4 теста, для которых разработаны доказательные рекомендации, были приемлемыми для больных и простыми в использовании.

Консенсус для подтверждения или исключения первичной цилиарной дискинезии

Для достижения консенсуса по применению диагностических тестов и при разработке рекомендации для больных без подтвержденного диагноза ПЦД, но с подозрением на ПЦД по результатам тестирования использовался метод Дельфи, который подробно описан в Приложении.

Результаты

По результатам оценки доказательств разработаны рекомендации, представленные в табл. 1.

Клинические симптомы

Резюме рекомендаций

Каких больных следует направлять на диагностическое тестирование?

Таблица 1

Доказательные рекомендации по применению каждого из 6 тестов для диагностики первичной цилиарной дискинезии

Table 1

Evidence-based recommendations for the use of each of the six tests considered for primary ciliary dyskinesia diagnosis

№ п / п	Рекомендация	Сила рекомендации
	Каких пациентов следует направлять на диагностическое обследование? На основании доказательств умеренной надежности:	
1	Эксперты рекомендуют направлять больных для диагностики ПЦД при выявлении у них следующих признаков: <ul style="list-style-type: none"> • хронический продуктивный кашель • аномалии расположения внутренних органов • врожденные пороки сердца • хронический ринит • хронические заболевания среднего уха с потерей слуха или без таковой, у детей – наличие симптомов заболевания верхних и нижних дыхательных путей в неонатальном периоде или госпитализация в неонатальное отделение интенсивной терапии 	Сильная
2	Больные с нормальным расположением внутренних органов с другими симптомами, похожими на ПЦД (они перечислены в рекомендации 1), должны быть направлены на диагностические тесты	Сильная
3	Братья и сестры больных также должны обследоваться на наличие ПЦД, особенно если у них имеются симптомы, похожие на ПЦД (см. рекомендацию 1)	Сильная
4	Для выявления больных, нуждающихся в диагностическом тестировании, эксперты рекомендуют комбинировать конкретные симптомы ПЦД и прогностические шкалы (например, PICADAR)	Слабая
	Следует ли использовать nNO в качестве диагностического теста у больных с подозрением на ПЦД? На основании доказательств умеренной надежности эксперты рекомендуют:	
1	• измерения nNO должны быть частью диагностического алгоритма у детей старше 6 лет и взрослых с подозрением на ПЦД, желательно с использованием ХЛА при закрытом надгортаннике	Сильная
2	• у детей моложе 6 лет с подозрением на ПЦД в комплексе диагностического обследования рекомендуется измерять nNO при спокойном дыхании	Слабая
	Примечание: эксперты предполагают, что больные с сильным клиническим подозрением на наличие ПЦД должны обследоваться далее даже при нормальном уровне nNO	Слабая
	Должен ли метод ВВА использоваться в качестве диагностического теста при подозрении на ПЦД? На основании доказательств слабой надежности эксперты рекомендуют:	
1	• ВВА, включая анализ частоты и паттерна биения ресничек, должен применяться как часть диагностической работы при подозрении на ПЦД	Слабая
2	• частота биения ресничек не должна использоваться для диагностики ПЦД без оценки паттерна биения ресничек	Сильная
3	• для повышения диагностической точности ВВА измерение частоты и паттерна биения ресничек должно выполняться повторно после культивирования клеток ресниччатого эпителия	Сильная

Окончание табл. 1 см. на с. 708

Окончание табл. 1 (начало см. на с. 707)

Следует ли применять ПЭМ у больных с подозрением на ПЦД?		
На основании доказательств слабой надежности эксперты рекомендуют:		
1	• анализ ультраструктуры ресничек методом ПЭМ должен быть частью диагностической работы у больных с подозрением на ПЦД	Сильная
2	• больные с нормальной ультраструктурой ресничек, но с сильным клиническим подозрением на наличие ПЦД нуждаются в дальнейшем обследовании*	Сильная
3	• для больных с выраженными дефектами ультраструктуры ресничек, связанными с ПЦД, дальнейшее подтверждение диагноза не требуется**	Сильная
Следует ли применять генотипирование в качестве диагностического теста у больных с подозрением на ПЦД?		
Исследования, которые позволили бы ответить на этот вопрос, в настоящее время отсутствуют. Полезные для клиницистов положения представлены в разделе по генетике, но их доказательная база не оценена. В связи с этим для генотипирования сегодня нельзя выработать доказательные рекомендации, как для других диагностических тестов. Однако эксперты составили перечень положений Рабочей группы по генетике, основанный на соглашении между экспертами, но не на опубликованных доказательствах		
Следует ли применять метод ИФА для диагностики ПЦД?		
Исследования, которые позволили бы ответить на этот вопрос, в настоящее время отсутствуют. Полезные для клиницистов положения представлены в разделе по ИФА, но их доказательная база не оценена. В связи с этим для генотипирования сегодня нельзя выработать доказательные рекомендации, как для других диагностических методов. Однако эксперты составили перечень положений Рабочей группы по ИФА, основанный на соглашении между экспертами, но не на опубликованных доказательствах		

Примечание: * – согласно ПЭМ, нормальная ультраструктура ресничек не исключает наличия ПЦД (у 16 % больных ПЦД по результатам ПЭМ дефектов ресничек не отмечено);

** – у больных с выраженными ультраструктурными изменениями ресничек, типичными для ПЦД, (отсутствие наружных динеиновых ручек, комбинированное отсутствие наружных и внутренних динеиновых ручек, отсутствие внутренних динеиновых ручек в сочетании с нарушением расположения микротрубочек), по данным ПЭМ, почти всегда выявляется ПЦД (ложноположительные результаты крайне редки – около 0,7 %); ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; PICADAR (PCD symptoms and predictive tools) – шкала симптомов и инструментов прогнозирования первичной цилиарной дискинезии для определения вероятности ее наличия у пациента с продуктивным кашлем; nNO – назальный оксид азота; BVA – высокоскоростной видеомикроскопический анализ; ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия; ХЛА – гемиллюминесцентный анализатор; ИФА – иммуноферментный анализ.

Notes. * – normal ciliary ultrastructure, as resolvable by TEM (transmission electron microscopy), does not exclude the diagnosis of PCD (16% PCD – positive patients have TEM without a detectable defect); ** – patients with hallmark ciliary ultrastructure defects for PCD (absence of outer dynein arms, combined absence of inner and outer dynein arms, inner dynein arm absence combined with microtubular disarrangement) assessed by TEM almost always have PCD (false-positive results are very rare 0.7%).

На основании доказательств умеренной надежности:

1. Эксперты рекомендуют направлять больных для диагностики ПЦД при выявлении следующих признаков:
 - хронический продуктивный кашель;
 - аномалии расположения внутренних органов;
 - врожденные пороки сердца;
 - хронический ринит;
 - хронические заболевания среднего уха с потерей слуха или без таковой;
 - у детей – наличие симптомов заболевания верхних и нижних дыхательных путей в неонатальном периоде или госпитализация в неонатальное отделение интенсивной терапии (сильная рекомендация).
2. Больные с нормальным расположением внутренних органов, но с другими симптомами, похожими на ПЦД (см. табл. 1, рекомендация 1), должны быть направлены на диагностические тесты (сильная рекомендация).
3. Братья и сестры больных также должны обследоваться на наличие ПЦД, особенно при имеющихся симптомах, похожих на ПЦД (см. табл. 1, рекомендация 1) (сильная рекомендация).
4. Для выявления больных, нуждающихся в диагностическом тестировании, эксперты рекомендуют использовать комбинацию нескольких симптомов ПЦД и прогностические шкалы (например, PICADAR) (слабая рекомендация).

Обзор доказательств для ответа на вопрос:

«Какие клинические симптомы прогнозируют наличие первичной цилиарной дискинезии?»

В данном обзоре выявлено 1 269 исследований, из которых 2 посвящены непосредственно данному вопросу; эти исследования включены в количе-

ственный анализ (см. рис. S1 Приложения). В описательный обзор включены еще 6 дополнительных исследований. Из анализа исключены 1 217 публикаций в связи с несоответствием названий и абстрактов данной теме и 44 – из-за несоответствия критериям включения (табл. S3, см. Приложение).

Доказательства для данных клинических рекомендаций выработаны в исследованиях *L. Behan et al.* [10] и *A.J. Shapiro et al.* [11]. В них включены суммарно 1 408 больных (табл. 2).

L. Behan et al. [10] проанализированы данные больных взрослых и детей ($n = 868$), из которых исключены лица ($n = 227$) с неполными или неопределенными результатами. В итоговый анализ включен 641 пациент. Вся информация собиралась с помощью стандартной анкеты, заполняемой врачом до получения результатов обследования. Рассчитаны чувствительность и специфичность многочисленных клинических симптомов (см. табл. 2; см. табл. S3 Приложения). Продуктивный кашель не позволял четко разграничить лиц с подтвержденным и неподтвержденным диагнозом ПЦД (чувствительность – 0,93, специфичность – 0,57). Продуктивный кашель отмечен почти у всех больных и становился основной причиной направления их на обследование. Неонатальные респираторные симптомы и неонатальный ринит имели высокую чувствительность (0,83 и 0,94), но более низкую специфичность (0,27 и 0,75) соответственно. Чувствительность и специфичность 25 клинических симптомов суммированы в табл. 2 и подробно описаны в дополнительных материалах.

Помимо описания отдельных симптомов, *L. Behan et al.* [10] разработана прогностическая шкала PICADAR, основанная на вопроснике из 7 пунктов и предназначенная для определения вероятности

Таблица 2
Резюме опубликованных клинических проявлений заболевания в исследованиях, включенных
в количественный анализ
Table 2
Summary of reported clinical manifestations in studies included in the quantitative analysis

Клинические проявления	Чувствительность	Специфичность
	95%-ный ДИ	
Проявления в неонатальном периоде		
Торакальные симптомы	0,75 (0,63–0,84)	0,83 (0,79–0,84)
Ринит	0,27 (0,17–0,38)	0,94 (0,91–0,95)
Респираторная поддержка	0,41 (0,30–0,53)	0,93 (0,90–0,95)
Госпитализация в блок интенсивной терапии	0,61 (0,49–0,72)	0,86 (0,83–0,89)
Симптомы поражения верхних дыхательных путей в постнатальном периоде		
Хронический ринит	0,81 (0,70–0,89)	0,43 (0,38–0,47)
Выраженный хронический средний отит	0,57 (0,45–0,69)	0,81 (0,77–0,84)
Хронический средний отит	0,33 (0,23–0,45)	0,75 (0,71–0,79)
Потеря слуха	0,49 (0,38–0,61)	0,84 (0,81–0,87)
Хроническая перфорация барабанной перепонки	0,12 (0,06–0,22)	0,91 (0,88–0,93)
Хирургическое лечение болезни уха	0,32 (0,22–0,44)	0,86 (0,82–0,88)
Хронический синусит	0,28 (0,19–0,40)	0,76 (0,72–0,79)
Симптомы поражения нижних дыхательных путей в постнатальном периоде		
Хронический продуктивный кашель	0,93 (0,84–0,98)	0,15 (0,12–0,18)
Рецидивирующие хрипы	0,48 (0,36–0,60)	0,62 (0,57–0,65)
Пневмонии в анамнезе	0,41 (0,30–0,53)	0,65 (0,61–0,69)
Бронхоэктазы	0,29 (0,20–0,41)	0,68 (0,64–0,72)
Другие проявления (в разных возрастных группах)		
Аномалии расположения внутренних органов*	0,51 (0,46–0,56)	0,94 (0,92–0,95)
Врожденные пороки сердца	0,08 (0,03–0,17)	0,98 (0,97–0,99)
Задержка развития	0,11 (0,05–0,20)	0,94 (0,91–0,96)
Гидроцефалия	0,01 (0,00–0,08)	0,99 (0,98–1,00)
Снижение репродуктивной функции**	0,91 (0,57–1,00)	0,82 (0,74–0,87)
Семейный анамнез (независимо от возраста)		
ПЦД у братьев и сестер	0,24 (0,15–0,35)	0,98 (0,97–0,99)
ПЦД у дальних родственников	0,05 (0,02–0,14)	0,99 (0,97–1,00)
Бронхиальная астма	0,16 (0,09–0,27)	0,66 (0,62–0,70)
Бронхоэктазы	0,04 (0,01–0,12)	0,96 (0,93–0,97)
Средний отит	0,07 (0,02–0,16)	0,89 (0,86–0,92)
Оценка по клиническим шкалам		
PICADAR > 5 баллов	0,90 (0,81–0,96)	0,75 (0,70–0,80)

Примечание: данные представлены по L.Behan et al. [10] ($n = 641$) – у 75 (12%) пациентов отмечена ПЦД; * – данные по аномалиям расположения внутренних органов по L.Behan et al. [10] и A.J.Shapiro et al. [11] ($n = 767$); ** – данные по снижению репродуктивной функции получены в подгруппе из 152 больных (у 11 (7%) отмечена ПЦД); ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; ДИ – доверительный интервал.

Notes: All data from BEHAN et al. [10] (641 eligible referrals, 75 (12%) had primary ciliary dyskinesia); *, data on situs anomalies are from BEHAN et al. [10] and SHAPIRO et al. [11] (767 referrals); **, data on subfertility are from a subgroup of 152 referrals where 11 (7%) had primary ciliary dyskinesia.

ПЦД у пациента с продуктивным кашлем. Шкала PICADAR валидизирована во внутренней (в рамках данного исследования) и внешней (независимой) когортах больных; это первая прогностическая шкала для диагностики ПЦД (суммарный балл – от 0 до 14). Чувствительность и специфичность суммарного балла > 5 составили 0,90 и 0,75 соответственно, что определено лучше, чем таковые отдельных симптомов.

A.J.Shapiro et al. [11] проанализированы данные больных взрослых и детей ($n = 767$). Информация о расположении внутренних органов собрана врачами путем анализа рентгенологических, хирургических и кардиологических данных из медицинских карт. Пациенты были разделены на 3 категории: с нормальным (*situs solitus*), обратным (*situs inversus*)

и неопределенным расположением внутренних органов (гетеротаксия, или *situs ambiguous*).

Аномалии расположения внутренних органов ($n = 1\,048$) описаны L.Behan et al. [10] и A.J.Shapiro et al. [11]. Суммарная чувствительность и специфичность, рассчитанная в этих 2 публикациях (для любой аномалии расположения внутренних органов), составила 0,508 и 0,939 соответственно (см. табл. S3 Приложения).

Описательный обзор дополнительных доказательств

M.W.Leigh et al. [12] описана проспективная когорта детей ($n = 534$) со значительным подозрением на ПЦД, среди которых у многих диагноз ПЦД установлен ранее. Экспертами заранее определены и исследованы 5 клинических симптомов, возникших

в раннем детском возрасте, и выявлены 4, прогнозирующие наличие ПЦД как по отдельности, так и в сочетании, среди которых:

- 1) беспричинный респираторный дистресс-синдром у доношенных детей в неонатальном периоде с необходимостью кислородотерапии > 24 ч;
- 2) круглогодичный продуктивный кашель с началом в раннем детском возрасте;
- 3) круглогодичная заложенность носа с началом в раннем детском возрасте;
- 4) дефекты латеральности [12].

E.M.Noll et al. [13] описана ретроспективная когорта больных ($n = 323$) с хроническим кашлем, направленных на обследование для исключения ПЦД. Выявлена также высокая специфичность неонатального респираторного дистресс-синдрома (> 0,9), персистирующего среднего отита, обратного расположения внутренних органов и бронхоэктазов. *G.Y.Chin et al.* [14] ретроспективно проанализированы истории болезни лиц ($n = 118$), направленных для проведения ПЭМ в связи с подозрением на ПЦД. При этом сравнивались разные сочетания симптомов у больных с нормальными и патологическими результатами ПЭМ, за исключением случаев с сомнительными (неопределенными) результатами. Установлено, что симптомы риносинусита, заболевания среднего уха и легочные симптомы чаще встречались в группе с патологическими результатами ПЭМ [11].

J.Beucher et al. [15] сравнивались данные ПЭМ больных с нормальными и патологическими результатами в ретроспективной когорте детей ($n = 89$) с подозрением на ПЦД. Установлено, что группы достоверно различались только по частоте обратного расположения внутренних органов. При сравнении *M.Pifferi et al.* [16] клинических симптомов у лиц с ПЦД ($n = 98$) и вторичной цилиарной дискинезией статистически достоверная разница получена для обратного расположения внутренних органов и тяжести бронхоэктазов.

В единственной публикации, в которой приведены данные детей неонатального возраста, *T.Mul-lowhey et al.* [17] сравнивались неонатальные симптомы у больных ПЦД ($n = 46$) и контрольных детей, перенесших неонатальный респираторный дистресс-синдром ($n = 46$). Выявлено, что коллапс доли легкого, обратное расположение внутренних органов и длительная потребность в кислородотерапии чаще встречались у детей с ПЦД. При сочетании обратного расположения внутренних органов, коллапса доли легкого и потребности в кислороде > 2 дней чувствительность составила 87 % (95%-ный доверительный интервал (ДИ) – 74–94), а специфичность – 86 % (95%-ный ДИ – 85–99).

В систематическом обзоре *M.Goutaki et al.* [18] описаны исследования случай-контроль или серии случаев с преобладанием клинической симптоматики у больных ПЦД, которые, однако, не соответствовали критериям включения и не вошли в настоящий документ. Все исследования были выполнены в развитых странах, при этом сделан

вывод, что прогностическое значение некоторых симптомов может зависеть, вероятно, от географического региона. Например, чувствительность и специфичность бронхоэктазов в субсахарской Африке, где часто встречаются бронхоэктазы, обусловленные туберкулезом, будут иными.

Ключевые невыясненные вопросы и направления дальнейших исследований

В проспективных когортах больных с подозрением на ПЦД требуются новые исследования, в которых клинические симптомы оценивались бы стандартизованно и дифференцированно в разных возрастных группах. Также существует потребность в проспективных исследованиях у новорожденных с неонатальным респираторным дистресс-синдромом. Кроме того, представляется целесообразным на основе полученной информации разрабатывать прогностические шкалы [17]. Прогностическое значение различных клинических симптомов может меняться в разных популяциях. Так, например, положительное и отрицательное прогностическое значение симптомов в значительной степени зависит от распространенности заболевания в исследуемой популяции и будет ниже в популяции с меньшей распространенностью данного заболевания (т. е. в первичном и вторичном звеньях здравоохранения по сравнению с экспертными центрами по ПЦД). Чувствительность и специфичность (см. табл. 2) не зависят от распространенности заболевания, однако у разных больных могут присутствовать различные фенотипы ПЦД (ЛОР-патология, пульмонологические и кардиологические нарушения), следовательно, прогностическое значение разных симптомов будет различаться. Например, пульмонологическая клиническая картина хронического кашля у больных ПЦД и без таковой не различается, так же, как симптомы заболеваний уха, носа и горла – у разных больных в клинической ЛОР-картине, где почти у каждого будут отмечаться аналогичные симптомы, а кардиологические дефекты не будут различаться у разных пациентов в кардиологической практике. Также следует учесть и другой фактор – возможны ли разные клинические проявления у людей с разными генотипами (например, у больных с генотипом CCNO не будет аномалии расположения внутренних органов, но будет бесплодие у женщин)? Поэтому результаты будут меняться в зависимости от преобладания той или иной мутации в исследуемой популяции.

Таким образом, клинические исследования должны выполняться в определенных клинических условиях и популяциях больных с учетом возраста, пола и генетических нарушений.

Резюме

Опубликовано крайне мало статей, в которых имеется ответ на данный вопрос (всего 2 статьи, одна из которых посвящена только обратному расположению внутренних органов); также в указанных работах не учитывалась тяжесть симптомов, а пациенты

не были стратифицированы по возрасту. В целом надежность полученных результатов умеренная, прежде всего по причине того, что при диагностическом поиске не учитывалось влияние результатов диагностики на дальнейшее ведение больных.

Выявлено, что клинические симптомы позволят разграничить больных ПЦД и без таковой, однако положительное прогностическое значение отдельного симптома (число больных с данным специфическим симптомом, которые в действительности имеют это заболевание) остается низким. Напротив, комбинация симптомов может обладать более высокой дискриминантной способностью, но при этом требуются дальнейшие исследования в разных популяциях больных.

В большинстве клинических исследований ПЦД исходным критерием отбора являлся продуктивный кашель с началом в раннем детском возрасте. В силу высокой распространенности этого симптома как у больных ПЦД, так и при других бронхолегочных заболеваниях его дискриминантная способность остается низкой.

Назальный оксид азота

Резюме рекомендаций

Следует ли использовать nNO в качестве диагностического теста у больных с подозрением на ПЦД?

На основании доказательств умеренной надежности в случае подозрения на ПЦД при измерении nNO рекомендации экспертов следующие:

- у детей старше 6 лет и взрослых измерения nNO должны быть частью диагностического алгоритма, желательно с использованием хемилюминесцентного анализатора (ХЛА) при закрытом надгортаннике (сильная рекомендация);
- у детей в возрасте моложе 6 лет nNO следует измерять при спокойном дыхании (слабая рекомендация).

Эксперты полагают, что у больных с сильным клиническим подозрением на наличие ПЦД следует продолжать обследование, несмотря на нормальный уровень nNO (слабая рекомендация).

Описание метода

По неизвестным причинам уровень nNO у больных ПЦД намного ниже, чем у здоровых и лиц с другими заболеваниями [19]. Точность nNO при диагностике ПЦД зависит от типа анализатора, способа сбора материала для исследования и возраста пациента [20].

Согласно последним рекомендациям, при измерении nNO с помощью стационарного ХЛА пациент должен вдохнуть газ через одну ноздрю и выдохнуть через другую при закрытом надгортаннике, например, во время задержки дыхания или при выдохе с сопротивлением. Результат оценивается на участке плато при технически приемлемой попытке [21]. Несмотря на то, что измерение nNO с помощью ХЛА при закрытом надгортаннике считается «золотым стандартом», такое измерение возможно не во всех ситуациях. У детей раннего возраста описаны измерения nNO методом спокойного дыхания [22, 23]. Если нет возможности использовать стационарный ХЛА, используются электромеханические портативные анализаторы [23]. В настоящее время нет единого мнения о пороговом значении nNO, разграничивающем положительный и отрицательный результат.

Анализаторы показывают концентрацию nNO в частицах на 1 млрд (ppb), но на это значение может влиять скорость сбора материала, поэтому концентрация nNO конвертируется в нл / мин по формуле:

$$\text{нл / мин} = \text{ppb} \times \text{скорость сбора материала (л / мин)}.$$

Таблица 3

Резюме диагностической точности измерения назального оксида азота у больных с подозрением на первичную цилиарную дискинезию

Table 3

Summary of diagnostic accuracy of nasal nitric oxide from measurements in consecutive patients suspected of primary ciliary dyskinesia (PCD)

Источник	Исследуемая популяция, n				Метод сбора материала	Пороговое значение, нл / мин	Чувствительность	Специфичность
	всего	с ПЦД	без ПЦД	с неопределенным диагнозом				
[24]	117	14	–	–	Задержка дыхания (n = 58)	52,5	0,92 (0,62–0,998)	0,96 (0,85–0,995)
					Выдох через рот с сопротивлением (n = 37)	72,6	1,0 (0,54–1,0)	0,94 (0,79–0,99)
					Спокойное дыхание (n = 97)	47,4	0,93 (0,66–0,998)	0,80 (0,69–0,88)
[25]	155	71	–	84	Выдох через рот с закрытым надгортанником (n = 155)	77	0,99 (0,92–0,9996)	0,75 (0,64–0,84)
[22]	86	49	37	–	Закрытый надгортанник (n = 74)	82,2	0,91 (0,79–0,98)	0,86 (0,68–0,96)
					Спокойное дыхание, 5 пиков (n = 86)	40	0,90 (0,78–0,97)	0,97 (0,86–0,999)
[26]	301	34	267	–	Закрытый надгортанник при задержке дыхания или выдохе через рот (n = 30,98)	30	0,90 (0,74–0,98)	0,95 (0,90–0)

Примечание: ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; ДИ – доверительный интервал.

Обзор доказательств, непосредственно отвечающих на вопрос: «Следует ли использовать pNO в качестве диагностического теста у больных с подозрением на первичную цилиарную дискинезию?»

При поиске публикаций выявлено 98 исследований, из которых 23 соответствовали критериям включения в качественный анализ. Из них в 4 исследованиях ($n = 588$) оценивался pNO в когорте больных с подозрением на ПЦД (табл. 3; см. табл. S4 Приложение). Остальные 19 исследований были исключены из формирования рекомендаций, но использованы в описательном обзоре (табл. S5, см. Приложение).

J.K.Marthin et al. [24] pNO измерялся методами задержки дыхания, выдоха с сопротивлением и спокойного дыхания. Изменения чувствительности составило от 0,92 (при задержке дыхания) до 1,0 (выдох с сопротивлением через рот), специфичности — от 0,80 (при спокойном дыхании) до 0,96 (при задержке дыхания). При использовании данных специализированного центра ПЦД *M.W.Leigh et al.* [25] вычислено пороговое значение pNO, которое составило 77 нл / мин, проверенное затем на больных ($n = 155$) в других клиниках. При сравнении лиц с подтвержденным и сомнительным диагнозом ПЦД чувствительность метода составила 0,99, специфичность — 0,75 [25]. Специфичность была ниже, т. к. диагностический протокол включал только ПЭМ и генетическое обследование, исключая таким образом многих истинных больных ПЦД (с сомнительным диагнозом, но не с отсутствием ПЦД). *N.Beydon et al.* [22] описана чувствительность 0,91 и специфичность 0,86 для метода измерения pNO с закрытым надгортанником (пороговое значение — 83 нл / мин) и 0,90 и 0,97 — для метода спокойного дыхания (40 нл / мин — среднее значение 5 пиков). *C.L.Jackson et al.* [26] использовано пороговое значение pNO 30 нл / мин, чувствительность и специфичность которого при разграничении больных с подтвержденной ПЦД ($n = 34$) и без таковой ($n = 267$) составили 0,91 и 0,96 соответственно. Методологические подробности этих 4 исследований приведены в дополнительных материалах (см. табл. S4 Приложение).

В целом надежность доказательств умеренная, преимущественно из-за того, что при диагностике не учитывалось влияние результатов на дальнейшее клиническое ведение больных.

Описательный обзор дополнительных доказательств

Важные вопросы обсуждались также во многих исследованиях, не соответствовавших критериям включения в анализ для выработки рекомендаций. В некоторых исследованиях pNO измерялось альтернативными методами без использования «золотого стандарта» Американского торакального общества (*American Thoracic Society*) и ERS (закрытый надгортанник, стационарный анализатор) [21]. Маневры спокойного дыхания весьма удобны, особенно у больных, не способных сделать выдох с закрытым надгортанником, но дискриминатная ценность дан-

ного способа ниже. В исследовании *J.K.Marthin et al.* [23] установлено, что чувствительность измерения pNO с задержкой дыхания составляет 0,92, а специфичность — 0,96 по сравнению с 0,93 и 0,80 при спокойном дыхании (пороговое значение для метода задержки дыхания составило 52,5 нл / мин, для спокойного дыхания — 47,4 нл / мин) соответственно. Однако по данным *N.Beydon et al.* [22], точность метода спокойного дыхания была выше (пороговое значение — 37,9 нл / мин; чувствительность — 0,94; специфичность — 0,92), чем при использовании метода закрытого надгортанника (пороговое значение — 82,2 нл / мин; чувствительность — 0,91; специфичность — 0,86). В 2 исследованиях случай—контроль pNO измерялось при помощи портативных анализаторов. При использовании портативного анализатора *J.K.Marthin et al.* [23] сравнивались показатели больных ПЦД, муковисцидозом и здоровых лиц. Чувствительность и специфичность составили 1,0 и 0,95 — для метода задержки дыхания (пороговое значение — 64 нл / мин) и 1,0 и 1,0 — для метода спокойного дыхания (пороговое значение — 43 нл / мин) соответственно [23]. *A.Harris et al.* [27] обследованы больные ПЦД ($n = 13$), а также контрольные и здоровые лица ($n = 37$) при использовании метода спокойного дыхания и портативного анализатора (пороговое значение — 30 нл / мин). Чувствительность и специфичность составили 1,0 и 0,95 соответственно [27].

Можно измерять pNO и у детей раннего возраста, однако возможность дифференцировать больных ПЦД и контрольных пациентов при этом снижена, т. к. у здоровых детей моложе 12 лет pNO обратно пропорционален возрасту [28, 29]. В исследовании [20] показано, что метод закрытого надгортанника можно применять у детей, начиная с возраста 3,9 года. Однако большинство маленьких детей не способны произвольно закрывать надгортанник, поэтому следует использовать метод спокойного дыхания. *J.K.Marthin et al.* [23] и *N.Beydon et al.* [22] полагают, что у взрослых метод спокойного дыхания может быть таким же точным, как и при закрытии надгортанника, однако этот факт у детей не проверялся. При обследовании больных всех возрастов ($n = 117$) *J.K.Marthin et al.* [23] установлено, что частота ложноположительных результатов при использовании метода спокойного дыхания у детей моложе 6 лет составляет 39 %.

Все больше накапливается доказательств, что некоторые генетические мутации, вызывающие ПЦД, могут сопровождаться легкими нарушениями биения ресничек и нормальным уровнем pNO. Это показано в 2 исследованиях с участием больных ПЦД с мутациями в гене, кодирующем белок радиальных спиц, и в 1 исследовании с участием больных ПЦД с патологической структурой нексиновых связей, обусловленной мутациями в гене GAS8, при этом уровень pNO был выше, чем обычно при ПЦД [30–32]. Частично это можно объяснить вариабельностью результатов и недостаточной точностью измерения pNO в некоторых исследованиях.

Ключевые невыясненные вопросы и направления дальнейших исследований

Существующие сегодня доказательства показывают, что nNO является ценным тестом для диагностики ПЦД, хотя отсутствует единое мнение о пороговых значениях. Следовательно, необходимо разработать стандартизованные протоколы и рассчитать пороговые значения nNO для метода спокойного дыхания, портативных анализаторов и детей младшего возраста, особенно моложе 6 лет. Дальнейшая работа по корреляциям генотипов и фенотипов поможет интерпретировать уровень nNO для снижения числа ложноотрицательных результатов в случаях диагностической неопределенности. В настоящий момент доказательства, позволяющие рекомендовать дальнейшее обследование для больных с нормальным уровнем nNO, отсутствуют, для этого требуются дополнительные данные.

Резюме

При диагностике ПЦД nNO является высокоточным тестом в случае, если измерение проводится на стационарном ХЛА с использованием метода закрытого надгортанника, чувствительность и специфичность которого составляют 0,90–1 и 0,75–0,97 соответственно. Метод спокойного дыхания или использование портативного анализатора менее чувствительны и специфичны, но могут оказывать влияние на окончательный диагноз. В разных исследованиях использованы разные методики и пороговые значения nNO, что затрудняет выбор оптимального значения.

Измерение nNO является недостаточно точным методом для того, чтобы подтвердить или исключить ПЦД без использования других диагностических тестов, но с учетом простоты измерения, неинвазивного характера и невысокой стоимости эксперты считают, что nNO должен быть частью диагностического процесса при подозрении на ПЦД.

Высокоскоростной видеомикроскопический анализ

Резюме рекомендаций

Должен ли метод ВВА использоваться в качестве диагностического теста при подозрении на ПЦД?

На основании доказательств низкой надежности эксперты рекомендуют следующее:

- ВВА, включая анализ частоты и паттерна биения ресничек, должен использоваться как часть диаг-

ностического поиска у больных с подозрением на ПЦД (слабая рекомендация);

- частота биения ресничек не должна использоваться для диагностики ПЦД без оценки паттерна биения ресничек (сильная рекомендация);
- для повышения диагностической точности ВВА измерение частоты и паттерна биения ресничек должно выполняться повторно после культивирования клеток реснитчатого эпителия (сильная рекомендация).

Описание метода

ПЦД связана с нарушением функции ресничек [33], что можно проанализировать *ex vivo*, оценив активность ресничек в респираторном эпителии носа или бронхов. Реснитчатые клетки можно исследовать сразу же после получения материала [34–36] и повторно – после их культивирования для дифференцировки ПЦД и вторичной дисфункции ресничек [37–40]. Видеокамера, прикрепленная к микроскопу, ведет запись на высокой скорости (120–150 кадров в секунду), которая затем воспроизводится более медленно (30–60 кадров в секунду) – для анализа паттерна и измерения частоты биения ресничек [41]. В большинстве исследований этот анализ проводится опытными цитологами, реже используется компьютерный анализ с целью уменьшения субъективности оценки. ВВА позволяет вести непрерывную запись, которая в дальнейшем может использоваться для экспертного заключения или в исследовательских целях.

Обзор доказательств, отвечающих на вопрос:

«Должен ли метод высокоскоростного видеомикроскопического анализа использоваться в качестве диагностического теста при подозрении на первичную цилиарную дискинезию?»

Экспертами отобрано 113 исследований, из которых 30 соответствовали критериям включения для качественной оценки (см. рис. S1 Приложения). В 2 исследованиях выполнялся ВВА в когорте больных с подозрением на ПЦД ($n = 650$), у которых этот диагноз впоследствии был подтвержден или исключен; эти исследования легли в основу рекомендаций (табл. 4). Остальные 28 публикаций не соответствовали критериям включения для формирования рекомендаций, но вошли в описательный обзор (табл. S6, см. Приложение).

Таблица 4

Резюме диагностической точности высокоскоростного видеомикроскопического анализа у больных с подозрением на первичную цилиарную дискинезию

Table 4

Summary of diagnostic accuracy of high-speed video analysis (HSVA) from evaluation in consecutive patients suspected of primary ciliary dyskinesia (PCD)

Источник	Исследуемая популяция, n	Число лиц с ПЦД, n	Метод оценки ресничек	Чувствительность	Специфичность
				95%-ный ДИ	
[42]	25	10	Оценка частоты биения ресничек с помощью ВВА, количественная оценка паттерна биения ресничек	0,96 (0,89–0,98)	0,96 (0,89–0,98)
[26]	625	60	Оценка частоты биения ресничек с помощью ВВА, субъективная оценка паттерна биения ресничек	1,0 (0,94–1,00)	0,93 (0,91–0,95)

Примечание: ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; ДИ – доверительный интервал.

J.-F.Papon et al. [42] измерены 12 параметров паттерна биения ресничек, в т. ч. частота. При этом установлено, что отношение расстояния, пройденного кончиком реснички, к количеству подвижных кончиков ресничек имеет наилучшую чувствительность (0,96) и специфичность (0,95) при дифференцировке больных с подтвержденной ПЦД ($n = 10$) и без таковой ($n = 15$) [42]. При использовании этого показателя у лиц ($n = 9$) с сомнительным диагнозом ПЦД подтверждена у 4 больных и исключена — у 4. В когорте из 625 больных, у 60 из которых подтвержден диагноз ПЦД, *S.L.Jackson et al.* [26] вычислены чувствительность и специфичность для комбинации измерения частоты и паттерна биения ресничек — 1,00 и 0,93 соответственно.

В целом надежность данных доказательств низкая, преимущественно из-за того, что при диагностике с помощью ВВА не учтено влияние результатов на дальнейшее клиническое ведение больных, а также из-за недостатков исследований (ВВА широко использовался как часть стандартной диагностики при отсутствии слепого метода).

Описательный обзор дополнительных доказательств

В настоящее время стандартизованный метод обработки и анализа клеток отсутствует. Респираторный эпителий можно получить путем браш-биопсии, кюреткой или щипцами, обычно через нос [43]. Цилиарная функция меняется в разных ситуациях, например, в зависимости от температуры и pH; в некоторых центрах биопсия проводилась при температуре 37 °C [26, 40, 42, 44], в других — при более низкой температуре [35, 37, 45]. Это может влиять на цилиарную функцию, поэтому в каждом центре нужно установить собственные нормативы, пока отсутствует консенсус о стандартизации этого метода.

При получении сомнительного или патологического результата требуется повторное исследование культивированных клеток [38, 40, 46, 47], т. к. нередко вторичные дефекты. В серии из 712 наблюдений *M.Jorissen et al.* [47] оценивалась частота биения ресничек и их координация в культивированной суспензии клеток (сфероидов). До культивирования реснитчатого эпителия нарушения цилиарной функции регистрировались у 642 (20 %) больных без ПЦД, а после культивирования в 100 % случаев доказана нормальная активность ресничек. Напротив, при исследовании биоптатов ($n = 70$) больных ПЦД (из которых информативными были 56) до культивирования нормальная частота биения ресничек выявлена у 20 % и скоординированная цилиарная активность — у 10 %. После культивирования нормальная частота биения ресничек обнаружена только в 7 % случаев, и ни в одном из них цилиарная функция не была скоординированной, что делает этот показатель более чувствительным и специфичным, чем частота биения ресничек [47]. *R.A.Hirst et al.* [40] опубликованы данные о частоте и паттерне биения ресничек больных ($n = 158$) до и после культивирования. До культивирования клеток у боль-

шинства лиц с ПЦД и без таковой выявлены нарушения функции ресничек разной степени. После культивирования реснитчатого эпителия нормальный паттерн биения ресничек выявлен у всех больных без ПЦД, тогда как во всех случаях ПЦД он имел отклонения. *M.Pifferi et al.* [46] проанализированы частота и паттерн биения ресничек после культивирования суспензии клеток (сфероидов) у лиц ($n = 9$) с сомнительными результатами назальной браш-биопсии. После культивирования выявлены нарушения паттерна биения ресничек ($n = 4$), подозрительные в отношении ПЦД, в 2 случаях диагностирована вторичная дискинезия ресничек и еще у 3 пациентов диагноз по-прежнему оставался сомнительным. Частота успешной диагностики при культивировании клеток составляет 54–83 % [26, 37, 40].

Измерение частоты биения ресничек не позволяет адекватно дифференцировать ПЦД и другие заболевания, если одновременно не анализируется паттерн биения ресничек. *W.A.Stannard et al.* [48] для определения процента дискинетических участков эпителия получены чувствительность и специфичность 0,97 и 0,95 соответственно, тогда как измерение только частоты биения ресничек обладало чувствительностью и специфичностью 0,87 и 0,77 соответственно. Более того, при ПЦД частота биения ресничек может быть низкой, нормальной или повышенной, в зависимости от генотипа [45].

Некоторые ультраструктурные дефекты и генетические мутации, вызывающие ПЦД, могут быть связаны со специфическим паттерном биения ресничек. В когорте детей ($n = 56$) *M.A.Chilvers et al.* [44] описаны очевидно неподвижные реснички у больных либо с комбинацией дефектов внутренних (ВДР) и наружных (НДР) динеиновых ручек, либо с изолированным дефектом НДР; ригидный паттерн у лиц с изолированным дефектом ВДР или дефектом радиальных спиц и ВДР, а также циркулярный паттерн биения ресничек у пациентов с транспозиционным дефектом. *J.Raidt et al.* [45] изучен паттерн биения ресничек в зависимости от генетических вариантов ПЦД. Несмотря на то, что число больных, имевших определенные гены, было крайне мало, по результатам подтверждена взаимосвязь между геном, вызывающим ПЦД, и определенным паттерном биения ресничек: реснички у лиц с мутациями в генах, вызывающих дефекты НДР (DNAH5, DNAI1, DNAI2, ARMC4), совершали минимальные остаточные движения. У больных с мутациями DNAH11 (нормальная ультраструктура) реснички имели гиперкинетический паттерн биения со сниженным проксимальным аксонемальным сгибанием. Некоторые генетические дефекты, такие как мутации GAS8, могут приводить к небольшим дефектам, с трудом выявляемым при ВВА [30].

Ключевые невыясненные вопросы и направления дальнейших исследований

Сегодняшние доказательства позволяют предположить, что ВВА является ценным методом для диаг-

ностики ПЦД, однако пока консенсус по должной обработке клеток и методам оценки состояния ресничек отсутствует. Также необходимо разработать стандартизованные протоколы и пороговые значения показателей для анализа паттерна биения ресничек *ex vivo*. Дальнейшее изучение корреляций между генотипами и ультраструктурными фенотипами поможет интерпретировать результаты ВВА в случаях диагностической неопределенности.

Резюме

ВВА — точный тест для диагностики ПЦД, если выполняется опытными исследователями и при этом анализируются и частота, и паттерн биения ресничек (чувствительность и специфичность 0,95–1,00 и 0,93–0,95 соответственно). Культивирование ресниччатых клеток может повысить точность ВВА, особенно при исключении ложноположительных результатов.

ВВА недостаточно стандартизован для подтверждения или исключения ПЦД. Учитывая, что оптимальные условия изучения цилиарной функции не определены, эксперты пришли к выводу, что ВВА у больных с подозрением на ПЦД должен выполняться опытным персоналом, однако при этом во многих центрах снижается доступность метода.

Трансмиссионная электронная микроскопия

Резюме рекомендаций

Следует ли использовать ПЭМ у больных с подозрением на ПЦД?

На основании доказательств низкой надежности экспертами даются следующие рекомендации:

- у больных с подозрением на ПЦД анализ ультраструктуры ресничек методом ПЭМ должен быть частью диагностической работы (сильная рекомендация);
- больные с нормальной ультраструктурой ресничек, но с сильным клиническим подозрением на

наличие ПЦД нуждаются в дальнейшем обследовании (сильная рекомендация);

- для больных с выраженными дефектами ультраструктуры ресничек, связанными с ПЦД, дальнейшее подтверждение диагноза не требуется (сильная рекомендация).

Описание метода

В.А. Afzelius (1976) [33] продемонстрировано, что ПЭМ может использоваться для выявления ультраструктурных дефектов ресничек у лиц с ПЦД. Позже в течение многих лет ПЭМ расценивалась как «золотой стандарт» диагностики ПЦД. Однако в нескольких генетических исследованиях показано, что некоторые генетические подтипы ПЦД (например, вызванные мутациями DNAH11), не могут быть выявлены с помощью ПЭМ, и число таких вариантов возрастает. Таким образом, ПЭМ не может исключить ПЦД.

Респираторный эпителий для анализа обычно получают с нижней носовой раковины при щеточной или кюретажной биопсии либо из нижних дыхательных путей при бронхоскопии. Эпителий фиксируется глутаральдегидом и помещается в блоки, из которых с помощью ультрамикротомы готовятся срезы. При окраске тяжелыми металлами (свинцом или уранилом) обеспечивается контрастность. Реснички здоровых клеток оцениваются в поперечных срезах с помощью ПЭМ [50, 51]. Число анализируемых ресничек и клеток различается в разных исследовательских центрах. Если не проанализировать достаточное число клеток, можно пропустить интермиттирующие дефекты. Для выполнения ПЭМ и интерпретации результатов требуется значительный опыт; затраты на оборудование и его содержание высокие.

Нормальная ультраструктура ресничек в поперечном срезе выглядит как круг, состоящий из 9 пар микротрубочек (МТ), соединенных динеиновыми ручками, и центральной пары МТ (рис. 1). Сущест-

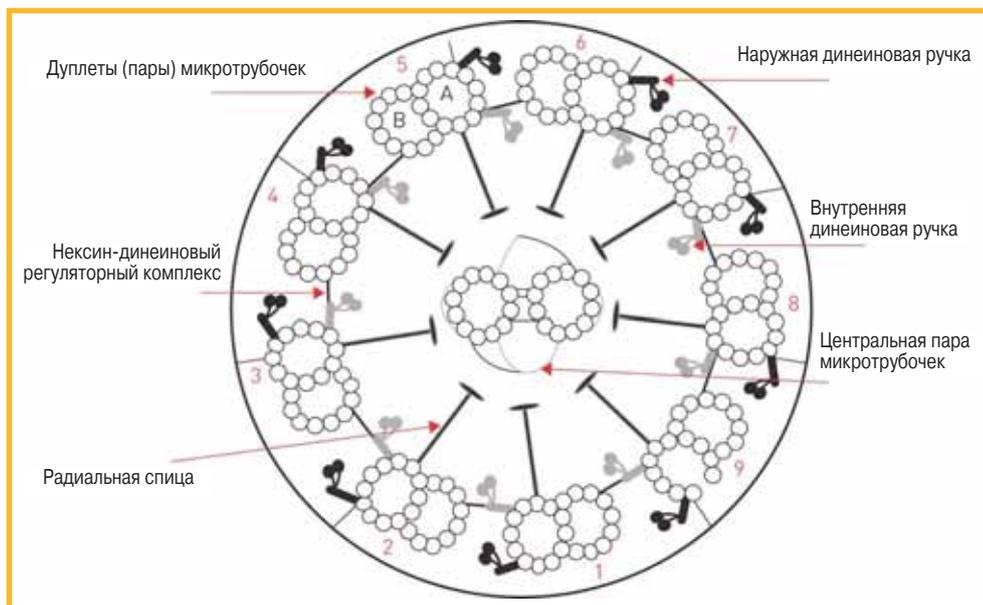


Рис. 1. Диаграмма нормальной ультраструктуры цилиарной аксономы в поперечном сечении

Figure 1. Diagram of normal ultrastructure of the ciliary axoneme in transverse section

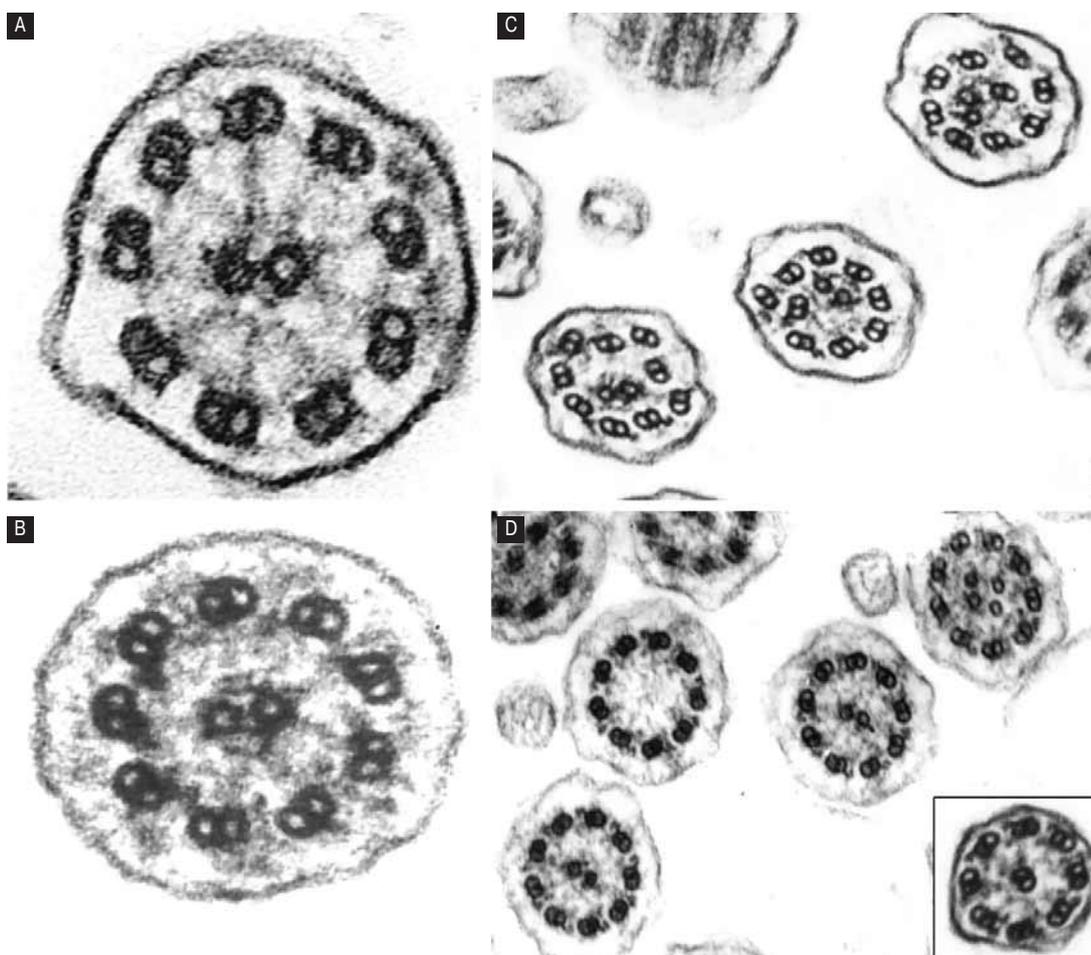


Рис. 2. Электронная микроскопия дефектов при первичной цилиарной дискинезии: А — наружной и внутренней динеиновых ручек; В — наружной динеиновой ручки; С — внутренней динеиновой ручки и нарушение расположения микротрубочек; D — центральной пары и транспозиции

Figure 2. Electron microscopy images of primary ciliary dyskinesia defects. A) Inner and outer dynein arm defect; B) outer dynein arm defect; C) inner dynein arm and microtubular disarrangement and D) central pair and transposition defect

вует множество ультраструктурных фенотипов, связанных с диагнозом ПЦД (рис. 2). В большинстве случаев ПЦД обусловлена отсутствием динеиновых ручек. Другие дефекты включают нарушение расположения пар МТ либо утрату центральной пары (табл. 5). У некоторых больных ПЦД ультраструктура ресничек при ПЭМ выглядит нормальной. Вторичная цилиарная дискинезия может быть связана с преходящими ультраструктурными нарушениями, такими как соединение ресничек, аксонемальные блесбы, дополнительные трубочки, что не может остаться недиагностированным при ПЭМ.

Обзор доказательств, отвечающих на вопрос:
«Следует ли использовать трансмиссионную (просвечивающую) электронную микроскопию у больных с подозрением на первичную цилиарную дискинезию?»

Экспертами найдены и просмотрены 370 публикаций, из которых 46 полнотекстовых статей были проанализированы по критериям включения и исключения в данный анализ. Из 17 публикаций, соответствовавших критериям включения (табл. S7, см. Приложение), в 11 ($n = 3\ 200$) ПЭМ оценивалась в когорте больных с подозрением на ПЦД; эти данные включены в доказательства рекомендаций (см. рис. S1 Приложения).

В табл. 5, 6 суммированы 11 исследований, посвященных этому вопросу. Чувствительность метода, рассчитанная для каждого исследования, колебалась от 0,71 до 1,00, специфичность — от 0,92 до 1,00. В 2 исследованиях сообщалось о 5 ложноположительных результатах. *J.-F. Papon et al.* [42] получены 2 ложноположительных результата: у одного ребенка с тяжелой бронхиальной астмой без рецидивирующих инфекций верхних дыхательных путей выявлено укорочение или отсутствие НДР в 44 % ресничек назального эпителия и в 90 % ресничек бронхиального эпителия; во 2-м случае у взрослого больного с обратным расположением внутренних органов и назальными полипами без симптомов патологии нижних дыхательных путей выявлено отсутствие ВДР без нарушения организации МТ (личное наблюдение). *M. Munkholm et al.* [57] описаны 3 ложноположительных случая вторичной цилиарной дискинезии, из которых у 2 больных состояние улучшилось с исчезновением клинических симптомов, а у 3-го развилась тяжелая бронхиальная астма. Общая специфичность метода при суммарной оценке 11 исследований составила $> 0,99$.

Качество полученных доказательств оценено как низкое из-за того, что при диагностике не учитывались последствия подтверждения диагноза для дальнейшего клинического ведения и в связи с недостатками иссле-

Таблица 5

Характеристика ультраструктурных дефектов ресничек, описанных в 9 исследованиях, в которых для диагностики первичной цилиарной дискинезии использовались вопросник PICO и трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия

Table 5

Characteristics of the ultrastructural defects described in nine studies directly addressing the PICO question using transmission electron microscopy to diagnose primary ciliary dyskinesia

Показатель	[54]	[48]	[58]	[56]	[59]	[26]	Итого
Число пациентов, n	190	68	155	214	138	57	
Изолированный дефект НДР	33	26	54	41	59	46	44
Дефект НДР и ВДР	32	34	23	24	6	39	25
Дефект ВДР с нарушением расположения МТ	13	6	7	9	16	9	10
Изолированный дефект ВДР	4	21	15	13	0	0	9
Дефект центральной пары	19	13	1	12	14	7	8
Другие*		3			5		1
Всего, n	190	68	155	214	138	57	

Примечание: данные представлены в виде процентов, если не указано другое; * – включая аплазию ресничек и дополнительные микротрубочки; НДР – наружные, ВДР – внутренние динеиновые ручки; МТ – микротрубочки.

Notes. Data are presented as percentage, unless otherwise stated. *, include ciliary aplasia, disorientation and extra microtubules.

Таблица 6

Чувствительность и специфичность диагностических тестов по результатам 11 исследований, в которых для диагностики первичной цилиарной дискинезии использовались вопросник PICO и трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия

Table 6

Sensitivity and specificity of the 11 studies directly addressing the PICO question using transmission electron microscopy to diagnose primary ciliary dyskinesia

Источник	Исследуемая популяция, n	Достижение окончательного диагностического результата, n	Чувствительность	Специфичность
			95%-ный ДИ	
[37]	812	468	0,71 (0,61–0,81)	1,0 (0,99–1,0)
[52]	64	62	0,75 (0,48–0,93)	1,0 (0,93–1,0)
[39]	59	56	0,77 (0,50–0,93)	1,0 (0,91–1,0)
[53]	231	187	1,0 (0,88–1,0)	1,0 (0,98–1,0)
[54]	1 149	793	0,82 (0,77–0,86)	1,0 (0,99–1,0)
[55]	24	24	0,92 (0,62–1,0)	1,0 (0,74–1,0)
[42]	34	28	0,83 (0,52–0,98)	1,0 (0,79–1,0)
[56]	1 182	1 031	0,88 (0,83–0,91)	1,0 (1,0–1,0)
[40]	165	122	0,96 (0,87–1,0)	1,0 (0,95–1,0)
[57]	239	61	0,83 (0,61–0,95)	0,92 (0,79–0,98)
[26]	868	368	0,79 (0,68–0,88)	1,0 (0,99–1,0)

Примечание: ДИ – доверительный интервал.

дований (частое использование ПЭМ в качестве диагностического стандарта и отсутствие слепого метода). Однако достаточно низкая частота ложноположительных результатов и очень высокая специфичность ПЭМ позволили оценить рекомендации как сильные.

Описательный обзор дополнительных доказательств

При обзоре всех публикаций (после 1996 г.), в которых описаны показатели когорты больных ($n = 50$) [26, 42, 48, 56, 58, 59] (см. табл. 4), проанализирована частота выявленных при ПЭМ ультраструктурных дефектов у лиц с ПЦД. Наиболее часто встречались дефекты НДР (26–59 %) и комбинированные дефекты НДР и ВДР (6–39 %). Приведенные далее рекомендации относятся к наиболее частым и значимым

дефектам (отсутствие НДР, комбинированное отсутствие ВДР и НДР, отсутствие ВДР в сочетании с нарушением расположения МТ). Изолированные дефекты ВДР, выявляемые при ПЭМ, неоднозначны. В нескольких исследованиях показано, что ВДР трудно визуализируются при ПЭМ [42, 60, 61], и для подтверждения диагноза рекомендуется повторный анализ [62]. Дефекты центральной пары МТ обычно встречаются в небольшом числе ресничек, что затрудняет диагностику, особенно если у пациента нет обратного расположения внутренних органов.

Также проанализированы доказательства применения дополнительных диагностических методов, улучшающих результат ПЭМ при ПЦД. Опубликованы сообщения, что визуализация динеиновых

ручек улучшается при компьютерном анализе результатов, который повышает чувствительность ПЭМ [60, 61]. Электронная томография – усовершенствованная методика ПЭМ, которая позволяет визуализировать структуры в трехмерном формате. Серия изображений ПЭМ получается при поворотах биоптата под разными углами вокруг 2 перпендикулярных осей. Затем все полученные изображения объединяются в единую трехмерную модель с высоким разрешением. Если внутри одной томограммы имеются повторяющиеся структуры, изображение можно усилить с помощью усреднения – методика, в которой компьютерная программа выбирает общие черты и сравнивает их с помощью кросс-корреляций. Показано, что при электронной томографии улучшается трехмерная визуализация ресничек и разрешение изображения, что позволяет выявлять больных с мутациями в генах *HYDIN* и *DNAH11* в условиях клинических исследований [63]. Возможность использования томографии в клинической практике для диагностики ПЦД пока не оценивалась.

В данном обзоре обсуждались только беспорядочные результаты. Частота сомнительных результатов колеблется от 1,7 до 28,6 % [26, 37, 39, 58]. Это связано с недостаточно отработанной методикой получения материала для исследования либо с наличием вторичных изменений ресничек. В 7 из 11 исследований сообщается о том, что следует избегать получения материала во время или сразу после перенесенной инфекции верхних отделов дыхательных путей, чтобы минимизировать вторичные ультраструктурные цилиарные нарушения.

Во многих диагностических центрах ПЦД используются методы культивирования реснитчатых клеток, которые стимулируют цилиогенез в биоптатах. Описано применение двух таких методик, при помощи которых для диагностики ПЦД индуцируются пролиферация базальных клеток и дифференцировка реснитчатых клеток [37, 40]. *M.Jorissen et al.* [37] разработана методика глубинного культивирования, а методика культивирования реснитчатых клеток для диагностики ПЦД впервые описана *R.A.Hirst et al.* [40]. Показано, что обе методики после культивирования клеток от здоровых людей и больных ПЦД сохраняют аксонемальные структуры и уменьшают вторичные повреждения ресничек [37, 40]. ПЭМ, используемая после культивирования, теоретически может облегчить диагностику [64].

Ключевые невыясненные вопросы и направления дальнейших исследований

По результатам фундаментальных научных исследований должна улучшиться методика ПЭМ для диагностики ПЦД у больных с нормальной ультраструктурой ресничек. В клинической практике при диагностике требуются стандартизованные протоколы и единая терминология, особенно относительно количества ресничек, необходимых для постановки диагноза. Также необходимо уточнить истинные

значение и распространенность дефектов ВДР и других редких дефектов.

Резюме

ПЭМ является высокоспецифичным методом для подтверждения диагноза ПЦД и основной частью диагностики этого заболевания. Однако у некоторых больных ПЦД обнаруживается нормальная ультраструктура ресничек, поэтому для исключения диагноза ПЦД ПЭМ не должна использоваться изолированно от других методов.

Во всех 11 исследованиях выполнен ретроспективный анализ когорт больных с клиническим подозрением на ПЦД, наибольшая из которых прослеживалась в течение 20 лет [54, 56]. Заниженная оценка качества доказательств связана с использованием ПЭМ как диагностического стандарта и отсутствием в исследованиях слепого дизайна; в результате качество доказательств оценено как низкое.

Генетика

Следует ли применять генотипирование в качестве диагностического теста у больных с подозрением на ПЦД?

В настоящее время исследования, посвященные этому вопросу и отвечающие критериям включения в данный анализ, отсутствуют.

Описание метода

ПЦД является генетически гетерогенным заболеванием. Как и при любых аутосомно-рецессивных нарушениях в целом, болезнь наиболее вероятно у детей, рожденных в близкородственных браках, с вероятностью 1 : 4, если оба родителя являются здоровыми носителями. Сегодня известны мутации более чем в 30 генах, которые могут вызывать ПЦД (табл. 7). Более подробное обсуждение ПЦД-ассоциированных генов представлено в дополнительных материалах.

Для установления генетического диагноза необходимо исследовать биаллельные мутации при аутосомно-рецессивной ПЦД и гемизиготные мутации при ПЦД, сцепленной с X-хромосомой. Большинство известных мутаций являются нонсенс-мутациями, мутациями «со сдвигом рамки» или сплайсинговыми мутациями, тогда как точечные (миссенс) мутации выявляются в небольшом числе случаев. Большинство мутаций являются редкими, но также описаны *founder*-мутации (например, в генах *DNAH11* [105] и *DNAH5* [95]) и мутационные «горячие точки» (*hot spots*) (например, *CCNO* [106]). Оценка роли мутаций должна основываться на международных рекомендациях [107]: доброкачественная (класс 1), вероятно доброкачественная (класс 2), неизвестного значения (класс 3), вероятно патогенная (класс 4) и патогенная (класс 5).

Взаимосвязь между генотипом и структурными дефектами, выявленными при ПЭМ и / или ИФА, хорошо известны, но гораздо меньше изучены взаимосвязи генов и результатов ВВА. Опубликованные исследования выполнены у небольшого числа больных и нередко с ограниченным числом видеозапи-

Обзор генов, вызывающих первичную цилиарную дискинезию, и их взаимосвязей по результатам просвечивающей электронной микроскопии и иммунофлуоресцентного анализа

Table 7

Overview of primary ciliary dyskinesia causing genes and their associated findings by transmission electron microscopy (TEM) and immunofluorescence analyses

Ген	Источник	Локус	ПЭМ	ИФА
<i>DNAH5</i>	[65]	5p15	НДР	Отсутствие DNAH5 и DNAH9 [67, 94, 95]
<i>DNAH11</i>	[49]	7p15–21	Норма	DNAH11 отсутствует у больных при наличии мутации с утратой функции гена DNAH11, при этом гены DNAH5 и DNALI1 присутствуют [96, 97]
<i>DNAI1</i>	[66]	9p21-p13	НДР	Окраска на DNAH5 может появляться на проксимальном и отсутствовать на дистальном отрезке, DNAH9 отсутствует в аксонеме реснички [67, 94]
<i>DNAI2</i>	[67]	17q25.1	НДР	DNAH5, DNAI2 и DNAH9 отсутствуют или аберрантные [67]
<i>NME8 (TXNDC3)</i>	[68]	7p14.1	НДР	Нет информации
<i>DNAL1</i>	[69]	14q24.3	НДР	Нет информации
<i>CCDC151</i>	[70]	19p13.2	НДР	DNAH5, CDC151, CCDC114 и ARMC4 отсутствуют, DNALI1 присутствует [70]
<i>CCDC114</i>	[71]	19q13.33	НДР	Функция CCDC114 значительно снижена, DNAH5 отсутствует, DNALI1 не нарушен [71]
<i>ARMC4</i>	[72]	10p21	НДР	Окраска на ARMC4 ослаблена на всем протяжении реснички, дистальная часть DNAH5 полностью утрачена, DNAH5 присутствует только на проксимальном конце хромосомы, DNALI1 присутствует [72, 98]
<i>CCDC103</i>	[73]	17q12	НДР + ВДР	У отдельных больных функция DNAH5, DNAH9 и DNALI1 утрачена или снижена [73]
<i>DYX1C1 (DNAAF4)</i>	[74]	15q21	НДР + ВДР	DNAH5, DNAH9 и DNAI2 отсутствуют [74]
<i>SPAG1</i>	[75]	8q22	НДР + ВДР	DNAH5 и DNALI1 отсутствуют [75]
<i>LRRC6</i>	[76]	8q24	НДР + ВДР	LRRC6, DNALI1 и DNAI2 отсутствуют или их функция значительно снижена [76, 82, 99]
<i>DNAAF2 (KTU)</i>	[77]	14q21.3	НДР + ВДР	DNAH5 и DNAI2 в дистальном отрезке отсутствуют, иногда определяется остаточное окрашивание; DNAH9 и DNALI1 отсутствуют [77]
<i>DNAAF1 (LRRC50)</i>	[78, 79]	16q24	НДР + ВДР	DNAH5, DNAH9 и DNALI1 отсутствуют [79]
<i>C21orf59</i>	[80]	21q22.1	НДР + ВДР	DNAH5 и DNALI1 отсутствуют [80]
<i>DNAAF3</i>	[81]	19q13	НДР + ВДР	DNAH5, DNAH9 и DNALI1 отсутствуют [81]
<i>ZMYND10</i>	[82]	3p21.3	НДР + ВДР	DNAH5, DNAI2 и DNALI1 отсутствуют [82, 100]
<i>DNAAF5 (HEATR2)</i>	[83]	7p22.3	НДР + ВДР	DNAI1, DNAH5 и DNALI1 отсутствуют, функция HEATR2 снижена [83, 101]
<i>HYDIN</i>	[84]	16q22	Норма / частота транспозиционных дефектов слегка повышена	IDA (DNALI1) и ODA (DNAH5) не изменены [84]
<i>RSPH1</i>	[32]	21q22.3	Интермиттирующий дефект центральной пары / транспозиция	RSPH1 и RSPH9 отсутствуют, RSPH4A присутствует [32, 86, 102]
<i>RSPH3</i>	[85]	6q25.3	Интермиттирующий дефект центральной пары / почти полное отсутствие радиальных спиц	RSPH3 и RSPH11 отсутствуют, RSPH1, RSPH4A и RSPH23** присутствуют (о RSPH9 нет информации), DNALI1 присутствует [85]
<i>RSPH9</i>	[86]	6p21	Интермиттирующий дефект центральной пары / транспозиция	RSPH9 отсутствуют, RSPH1 и RSPH4A присутствуют [86]
<i>RSPH4A</i>	[86]	6q22	Интермиттирующий дефект центральной пары / транспозиция	RSPH4A, RSPH9 и RSPH1 отсутствуют [86]
<i>DRC1 (CCDC164)</i>	[87]	2p23	Норма или слабо выраженная утрата РКДН с нечастым нарушением структуры МТ	GAS8 и LRRC48 на аксонемах ресничек отсутствуют [87]
<i>GAS8 (DRC4)</i>	[30]	16q24.3	Норма или легкие нарушения: повышенная частота нарушения расположения МТ	DNALI1 и DNAH5 присутствуют, GAS8 отсутствуют [30]
<i>CCDC65 (DRC2)</i>	[88]	12q13.12	Норма / утрата РКДН с нечастым нарушением структуры МТ	Функция CCDC65 и GAS8 снижена [88]

Окончание табл. 7 см. на с. 720

Окончание табл. 7 (начало см. на с. 719)

CCDC39	[89]	3q26	Нарушение структуры МТ + ВДР	Белок CCDC39 отсутствует, НДР с нормальным распределением (DNAH5, DNAI2, DNAH9), DNALI1 (ВДР) отсутствуют, GAS8 присутствует в цитоплазме, но отсутствует в аксомере [89, 103]
CCDC40	[90]	17q25	Нарушение структуры МТ + ВДР	Отсутствуют белок CCDC39; RSPH4A и ROPN1 L/RSP11 присутствуют в аксомере [90, 103]
RPGR*	[91]	Xp21.1	Различные	В норме. DNAH5 и DNALI1 присутствуют [104]
OFD1**	[92]	Xp22	Неизвестны	Нет информации
CCNO	[64]	5q11.2	Уменьшение числа ресничек	DNAH5 присутствует, рутлетин перемещен в более глубокие отделы цитоплазмы, CCNO не определяется [64]
MCIDAS	[93]	5q11.2	Уменьшение числа ресничек	MCIDAS, CCNO, DNAH5, CCDC39 и CCDC78 отсутствуют [93]

Примечание: ИФА – иммуноферментный анализ; НДР – наружные, ВДР – внутренние динеиновые ручки; РКДН – регуляторный комплекс динеина и нексиновых связей; МТ – микротрубочки; * – пигментный ретинит, обычно диагностируемый у взрослых больных; ** – редкий фенотип.
Notes. *, retinitis pigmentosa usually detected in adult patients; **, rare syndromic phenotype.

сей на каждого пациента [45], поэтому в настоящее время недостаточно данных для анализа корреляций между мутациями в гене и фенотипом цилиарной дискинезии. Существующая информация позволяет предположить, что мутация в гене *DNAH5* всегда сопровождается преимущественно неподвижными ресничками, тогда как мутации в различных регионах гена *DNAH11* могут приводить как к статичности ресничек, так и к увеличению частоты биения и ригидности ресничек [45, 108]. Таким образом, для подтверждения генетической причины ПЦД ультраструктурный дефект и ген должны коррелировать. В будущем мы должны научиться использовать корреляции между генными мутациями и цилиарным паттерном.

В принципе все методики изучения последовательностей ДНК могут применяться для генетического анализа у больных с подтвержденной ПЦД или ее высокой вероятностью (см. Приложение). Однако в связи с большим количеством и огромными размерами генов ПЦД сегодня широко используются высокопроизводительные технологии. Продуктивность аллель-специфического подхода при ПЦД низка ввиду большой генетической и аллельной гетерогенности. Установленные мутации должны быть подтверждены секвенированием по Сангеру, а родители больного должны быть проверены в отношении сегрегации аллелей. Специалисты генетических лабораторий должны понимать, что у больных ПЦД описаны крупные гетерозиготные геномные делеции, которые могут быть пропущены при секвенировании ДНК. Крупные гомо- и гетерозиготные инtragenные дупликации и глубокие интронные мутации также могут быть пропущены при секвенировании. Выявление инtragenных делеций и дупликаций может повыситься при использовании высокоточных таргетных панелей нового поколения для секвенирования. Однако при таком подходе требуются специальное усовершенствование и оценка чувствительности. Точность всех технологий, особенно методик второй линии, повышается при наличии информации об ультраструктурном дефекте больного, т. к. это позволяет оценить его взаимосвязь с молекулярными изменениями. Сегодня используется около 30 генов ПЦД, содержащих > 700 экзонов; таким образом, нередко выявляется гетеро-

генный вариант гена, который, скорее всего, не имеет отношения к заболеванию, учитывая данные ультраструктурного анализа. Для выявления причинного гена также могут применяться клеточные модели и модели организма в целом.

Обзор доказательств, непосредственно отвечающих на вопрос: «Следует ли применять генотипирование в качестве диагностического теста у больных с подозрением на первичную цилиарную дискинезию?»

В ходе поиска выявлены 462 исследования, из которых 95 соответствовали критериям включения в анализ (табл. S8, см. Приложение). В большинстве исследований участвовали больные с уже подтвержденной ПЦД; целью исследований являлась идентификация новых генов, а не диагностика. Таким образом, в настоящее время исследования, отвечающие критериями включения, отсутствуют.

Описательный обзор дополнительных доказательств

В популяции больных с подтвержденной или высоковероятной ПЦД причинные гены можно установить в 50–75 % случаев [109, 110]. Чувствительность генетического анализа в качестве диагностического теста первой линии при ПЦД в данный момент неизвестна, но, скорее всего, низкая. По мере выявления новых генов ПЦД и при использовании высокопроизводительных технологий секвенирования генетическая диагностика ПЦД может рассматриваться в будущем как метод, превосходящий все остальные методы диагностики. Сейчас генотипирование информативно в случаях, когда подтверждение диагноза с помощью других тестов затруднительно (например, при мутациях в генах *DNAH11*, *CCNO*, *MCIDAS* и *RSPH*). В качестве причины заболевания высокоспецифичны биаллельные мутации при ауто-сомно-рецессивной ПЦД или гемизиготные мутации при ПЦД, сцепленной с X-хромосомой.

В большинстве исследований, в которых изучались новые генетические нарушения при ПЦД, ультраструктурные дефекты определялись с помощью рутинной ПЭМ в качестве начального генетического исследования. Таким образом, вероятность идентификации мутаций при ПЦД с ультраструктурными нарушениями выше, чем при ПЦД без таковых. Подчеркивается, что при диагностике ПЦД нельзя

полагаться на ПЭМ как на единственный диагностический метод.

Публикации о мутациях в специфических генах, как правило, опираются на небольшие по численности выборки больных, не всегда этнически репрезентативны. Таким образом, роль каждого гена должна интерпретироваться осторожно. Исследователи, изучавшие мутации *DNAH5* и *DNAI1*, полагают, что на долю этих мутаций приходится около 50–70 % случаев дефектов НДР [94, 95, 111, 112]. Мутации *CCDC39* и *CCDC40* [89, 90, 103, 113] встречаются почти у всех больных с нарушением расположения МТ и отсутствием ВДН. Из 58 неродственных больных ПЦД с нормальной ультраструктурой у 22 % выявлены биаллельные мутации в гене *DNAH11* [96]. Такие мутации кодируют белки головки и ножки радиальной спицы (*RSPH1*, *RSPH3*, *RSPH4A*, *RSPH9*). *HYDIN* и белки nDRC (*DRC1*, *CCDC65*, *GAS8*) вызывают ПЦД с нормальной или слегка нарушенной ультраструктурой (см. табл. 7). Вклад этих генов в распространенность ПЦД пока не установлен.

В систематическом популяционном генетическом исследовании (Израиль) установлено, что ген *RGMC* в этой популяции встречается более часто (6 %), чем считалось ранее [106].

По результатам генетического анализа показано, что мутации *CCNO* и *MCIDAS* в гене *RGMC*, а также в генах, кодирующих белки головки радиальной спицы (*RSPH1*, *RSPH3*, *RSPH4A*, *RSPH9*) и белок *HYDIN*, связанный с центральной парой, не приводят к нарушениям симметрии структуры ресничек. Помимо этого, сегодня больные с биаллельными мутациями в генах, кодирующих белки nDRC, такие как *CCDC164*, *CCDC65* и *GAS8*, не имеют нарушений расположения внутренних органов.

Учитывая множество хромосомных регионов, секвенируемых у больных ПЦД, нередки ситуации, при которых выявляются ≥ 1 редких миссенс-вариантов, не связанных с данным заболеванием. Для интерпретации этих вариантов требуется большая работа. Важно, чтобы сегрегационный анализ этих вариантов и интерпретация его результатов выполнялись в экспертных лабораториях. У больных ПЦД с мутациями в генах *RSPH4A* и *RSPH9*, которые кодируют белки головки радиальных спиц, ценную информацию, касающуюся патогенности миссенс-мутаций, можно получить при ИФА-микроскопии [86]. Однако если мутантный белок, продолжая экспрессироваться, корректно компонуется внутри аксоном, как описано для миссенс-мутаций в гене *DNAH11* [97], результат ИФА может быть нормальным.

Эксперты не нашли доказательств, касающихся места генотипирования в диагностике ПЦД. И хотя ценность генотипирования для диагностики ПЦД еще предстоит доказать, в табл. 8 суммирована оценка Рабочей группой доказательств, опубликованных к настоящему времени.

Ключевые невыясненные вопросы и направления дальнейших исследований

Роль генетического тестирования в диагностике ПЦД окончательно не определена. Необходимы исследования по диагностической точности и ограничениям генетических методов в диагностике ПЦД. Также необходимо разработать стандарты генетического тестирования при ПЦД.

Резюме

Экспертам не удалось установить диагностическую точность генетического тестирования из-за недоста-

Таблица 8
Резюме консенсуса Рабочей группы по опубликованным доказательствам применения генетического тестирования при первичной цилиарной дискинезии
Table 8
Summary of the Task Force consensus on the published evidence on genetic testing in primary ciliary dyskinesia (PCD) diagnostics

В настоящее время требуются дальнейшие доказательства для определения места генетического тестирования в диагностике ПЦД, однако эксперты пришли к следующему соглашению:

- генетическое тестирование для подтверждения диагноза ПЦД может выполняться у больных, у которых данное заболевание диагностировано другими методами (ВВА, ПЭМ, ИФА) или у лиц с большим клиническим подозрением на ПЦД (типичные клинические проявления, низкий nNO и отсутствие других доступных исследований, таких как ВВА, ПЭМ и ИФА). Отрицательный результат генетического тестирования не исключает ПЦД
- генетическое тестирование также может проводиться для подтверждения диагноза у лиц с большим клиническим подозрением на ПЦД, у которых при проведении ВВА, ПЭМ и ИФА диагноз не подтвердился, например, у больных с мутациями в генах *DNAH11*, *CCNO*, *MCIDAS* или *RSPH*
- генетическое тестирование и интерпретация его результатов должны осуществляться в рамках национальных и международных клинических рекомендаций [114, 115]
- генетический диагноз не должен противоречить клиническому фенотипу и результатам ВВА, ПЭМ и ИФА. Если результаты генетического исследования противоречат остальным данным, диагноз следует пересмотреть
- для подтверждения генотипа пробанда (дифференцировки гомо- и гетерозигот, компаунд-гетерозигот и комплексных аллелей) важен анализ сегрегации аллелей среди родственников, особенно у обоих родителей
- генетическое тестирование пробандов и их родственников желательно для генетической консультации и репродуктивного выбора
- в будущем генетическое тестирование может использоваться для генотип-специфической терапии

Примечание: ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; ВВА – высокоскоростной видеомикроскопический анализ; ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия; ИФА – иммуноферментный анализ; nNO – назальный оксид азота.

точного количества соответствующих исследований. В нескольких исследованиях у больных с подтвержденным диагнозом ПЦД выявлены гены, ответственные за это заболевание. Это свидетельствует о том, что при генетическом тестировании могут обнаружиться причинные гены примерно в 65 % случаев; эта цифра, вероятно, будет возрастать по мере открытия новых генов. При получении новых данных следует пересмотреть вопрос о диагностической точности генетического тестирования.

Иммунофлюоресценция

Следует ли применять метод ИФА для диагностики ПЦД? В настоящее время исследования, посвященные этому вопросу и удовлетворяющие критериям включения в данный анализ, отсутствуют.

Описание диагностического метода

Для более глубокого понимания влияния причинных генов на цилиарные протеины были разработаны метки для цилиарных белков [116]. Специальные антитела с флюоресцентной меткой помещались на клетки респираторного эпителия человека и визуализировались с помощью конфокального микроскопа и флюоресценции. Существует множество антител к цилиарным протеинам, включая антитела к белкам НДР, ВДН, головки радиальных спиц и белкам динеиновых регуляторных комплексов. Пример такой методики приведен на рис. 3. Суспензия клеток респираторного эпителия помещалась на стекла, высушивалась и фиксировалась. Клетки инкубировались с антителами к цилиарным протеинам, не вовлеченным в патогенез ПЦД (например, с ацетилированным тубулином), для установки метки на аксонемы, а также с интересующими антителами, вырабатываемыми в различных образцах (например, антитела к DNAH5 использовались для изучения структуры НДР).

Обзор доказательств, отвечающих на вопрос: «Следует ли использовать иммунофлюоресцентную микроскопию в качестве диагностического инструмента у пациентов с подозрением на первичную цилиарную дискинезию?»

По результатам поиска выявлено 276 исследований (см. рис. S1 Приложения), однако ни в одном из них не сообщается об использовании иммунофлюоресцентных антител в качестве диагностического метода, поэтому эксперты не смогли установить диагностическую точность ИФА. По результатам 40 исследований показана возможность применения ИФА для диагностики; эта информация суммирована в дополнительных материалах (табл. S9, см. Приложение).

Описательный обзор дополнительных доказательств

Несмотря на то, что опубликованные статьи фокусируются на изучении клинического значения мутаций в генах ПЦД (см. табл. 7), некоторые центры используют ИФА для улучшения диагностики [117]. Такой опыт, скорее всего, будет накапливаться по

мере расширения спектра доступных антител; это позволит проанализировать диагностическую точность данного метода. В 2 наиболее крупных когортных исследованиях DNAH5 с помощью ИФА изучены у 16 больных ПЦД и затем в 17 семьях с дефектами НДР, выявленные при ПЭМ; во всех случаях обнаружено нарушение локализации белка. Более того, белок DNAH5 присутствует у больных муковисцидозом и у здоровых [94, 95]. Во многих исследованиях ИФА использовался для исследования измененной локализации белков, связанных с генетическими мутациями (см. табл. 7). Это дает, во-первых, индикаторы для практического использования, во-вторых, ожидаемые результаты при применении ИФА в качестве диагностического метода. При ИФА может выявляться измененная локализация белков у больных ПЦД с множеством разных мутаций, что позволяет судить о патогенности каждой мутации [86]. Однако в большинстве статей результаты ИФА получены у небольшого числа больных, и специфические для каждой мутации данные пока отсутствуют.

С помощью ИФА возможно выявлять почти все ультраструктурные дефекты, определяемые при ПЭМ, а также в случаях, когда при ПЭМ патология не выявляется или она незначительна [30, 86, 97]. Чувствительность и специфичность ИФА неизвестна, но зависит от сочетания и качества антител. По личному опыту экспертов, многие антитела не работают, поэтому прежде чем использовать их с диагностической целью, необходима валидизация в соответствующих группах больных и здорового контроля. ИФА может оказаться нормальным, если мутированный белок по-прежнему экспрессируется в аксонеме [97].

Экспертами не найдено доказательств, подтверждающих или отвергающих использование ИФА в качестве диагностического метода при ПЦД. И хотя ценность ИФА для диагностики ПЦД еще предстоит доказать, в табл. 9 суммирована оценка Рабочей группой доказательств, опубликованных к настоящему времени.

Ключевые невыясненные вопросы и направления дальнейших исследований

Прежде чем ИФА будет применяться в диагностических когортных исследованиях ПЦД, необходимы валидизационные исследования диагностической точности и ограничений ИФА при этом заболевании. Каждое антитело для практического применения должно быть валидизировано в исследованиях с соответствующими группами больных ПЦД и здорового контроля.

Резюме

Экспертам не удалось установить диагностическую точность ИФА из-за недостаточного количества соответствующих исследований. Эксперты Рабочей группы пришли к соглашению, что ИФА может использоваться в клинических условиях. Это наименее дорогостоящий и наиболее простой метод, чем

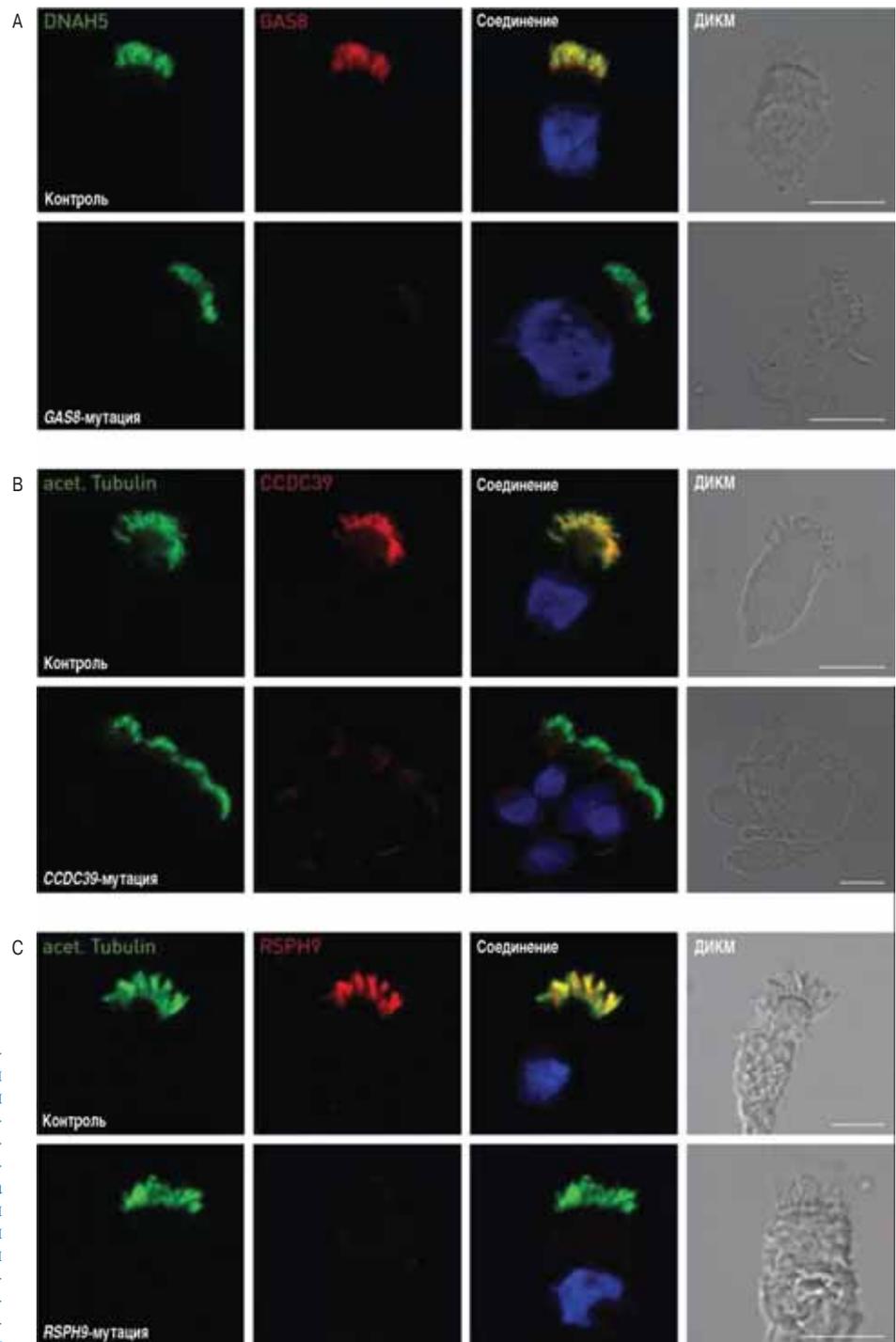


Рис. 3. Иммунофлуоресцентная микроскопия может применяться для выявления дефектов подвижности ресничек и дополнительной диагностики первичной цилиарной дискинезии. Представлены 3 образца патологической окраски: А – антитела к наружным динеиновым ручкам и тяжелой цепи DNAH5 (обозначен зеленым цветом) применяются для выявления комплекса наружных динеиновых ручек по всей длине реснички у контрольного пациента и носителя мутации GAS8. При помощи антител к GAS8 (обозначен красным цветом) выявляются изолированные дефекты нексиндинеинового регуляторного комплекса; В – антитела к CCDC39 (обозначен красным цветом) позволяют выявить дефекты 96 нм аксонемальной структуры, которая состоит из CCDC39 и CCDC40. Антитела к ацетилированному тубулину (обозначен зеленым цветом) используются для визуализации реснички; С – антитела к RSPH9 (обозначен красным цветом) используются для обнаружения различных дефектов комплекса головки радиальной спицы. Нормальная локализация компонентов реснички показана с помощью расположенного рядом цилиарного аксонемального маркера (обозначен желтым цветом), такого как ацетилированный тубулин (в частях В и С обозначен зеленым цветом) либо неповрежденных компонентов реснички (например DNAH5; в части А обозначен зеленым цветом). В отличие от этого, отсутствие структурных компонентов, участвующих в движении реснички, показано благодаря отсутствию белка в мутантных клетках (А–С). Ядра выделены голубым цветом.

Примечание: ДИКМ – дифференциальная интерференционно-контрастная микроскопия (1 квадрат – 10 мкм).

Figure 3. Immunofluorescence microscopy can be used to identify structural defects of motile cilia and to aid diagnosis of primary ciliary dyskinesia. Three examples of abnormal staining are presented. A, Antibodies directed against the outer dynein arm heavy chain DNAH5 (green) are used to detect the outer dynein arm complex along the entire ciliary lengths within the control and a person carrying a GAS8 Mutation. The antibodies directed against GAS8 (red) can identify isolated defects of the nexin-dynein regulatory complex. B, Antibodies against CCDC39 (red) can detect defects of the 96-nm axonemal ruler, which consists of CCDC39 and CCDC40. Anti-acetylated tubulin (green) antibodies are used to depict the cilia. C, Antibodies against RSPH9 (red) can be used to identify various defects of the radial spoke head complex. Normal localisation of ciliary components is shown by co-localisation (yellow colour) with ciliary axonemal markers such as acetylated tubulin (green in b and c) or unaffected ciliary components (i.e. DNAH5, green in a). In contrast, absence of structural components involved in ciliary motility is shown by absence of the protein in mutant cells (lower panels in A – C). Nuclei are shown in blue.

Резюме консенсуса Рабочей группы по опубликованным доказательствам применения иммунофлюоресцентного анализа для диагностики первичной цилиарной дискинезии

Table 9

Summary of the Task Force consensus on the published evidence on immunofluorescence testing in primary ciliary dyskinesia diagnostics

В настоящее время требуются дальнейшие доказательства для определения места ИФА-тестирования при диагностике ПЦД; однако эксперты пришли к соглашению, что при помощи ИФА возможно следующее:

- подтверждение патогенеза мутаций (например, миссенс-мутаций в генах, кодирующих белки радиальных спиц)
- выявление ПЦД у некоторых больных с нормальной ультраструктурой или легкими ультраструктурными дефектами ресничек
- диагностика ПЦД по дефектам НДР и ВДР, нарушению расположения МТ (мутации *CCDC39 / CCDC40*) и центральных пар (гены, кодирующие белки радиальных спиц) и дефектам нексиновых связей

Примечание: ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; ИФА – иммуноферментный анализ; НДР – наружные, ВДР – внутренние динеиновые ручки; МТ – микротрубочки.

другие тесты для диагностики ПЦД, что делает ИФА потенциальным методом диагностики в условиях ограниченных ресурсов.

Подтверждение или исключение диагноза первичная цилиарная дискинезия

Анализ по методу Дельфи состоит из 4 последовательных онлайн-опросов, каждый из которых основан на результатах предыдущего. Результаты опросов приведены в табл. S11 (см. Приложение). Соглашение экспертов Рабочей группы ERS ($\geq 80\%$ респондентов) позволило выстроить диагностический алгоритм (рис. 4).

Подтверждение диагноза

При анамнезе, соответствующем ПЦД, диагноз ПЦД подтверждается следующими признаками:

- выраженные ультраструктурные цилиарные дефекты (отсутствие НДР, сочетание отсутствия ВДР и НДР, отсутствие ВДР в сочетании с нарушением расположения МТ), выявляемые при ПЭМ;
- бесспорные биаллельные мутации в генах, вызывающих ПЦД.

В вопросе: «Можно ли при использовании любого теста в отдельности или в сочетании с другими тестами подтвердить диагноз ПЦД?» эксперты Рабочей группы не достигли консенсуса ($< 80\%$).

Высокая вероятность первичной цилиарной дискинезии

У больных с анамнезом, соответствующим ПЦД, следующие результаты диагностических исследований делают диагноз ПЦД высоковероятным, но не окончательным:

- очень низкий *nNO* + ВВА, соответствующий ПЦД (например, статичность или круговое движение ресничек), при трехкратном исследовании;
- очень низкий *nNO* + ВВА, соответствующий ПЦД (например, статичность или круговое движение ресничек), в культивированных клетках.

Если диагноз ПЦД высоковероятен, но не является окончательным, следует объяснить больному, что диагноз вероятен, но учитывая ограничения диагностических методов, нет 100%-ной уверенности в диагнозе, и при появлении более надежных тестов может потребоваться повторное подтверждение диагноза. У больного следует исключить другие

причины появления симптомов; лечение должно быть таким же, как при ПЦД. По мере появления новых методов диагностики могут потребоваться новые исследования.

Исключение диагноза первичная цилиарная дискинезия

В вопросе: «Может ли любой тест в отдельности или в сочетании с другими тестами исключить диагноз ПЦД?» эксперты Рабочей группы не достигли консенсуса ($< 80\%$). Однако опираясь на проанализированные доказательства, эксперты согласились с тем, что существуют состояния, при которых диагноз ПЦД крайне маловероятен (если клиническое подозрение на ПЦД умеренное и *nNO* высокий или нормальный плюс нормальный результат ВВА, либо *nNO* высокий или нормальный плюс нормальный результат ВВА в культивированных клетках).

Больному следует объяснить, что диагноз ПЦД крайне маловероятен и дальнейшее обследование не рекомендуется. Если клиническое подозрение очень высокое (например, синдром Картагенера ≥ 10 баллов по шкале PICADAR), диагноз ПЦД не может быть исключен в связи с недостаточной точностью современных диагностических тестов.

Общие положения

Члены Рабочей группы полагают, что диагностические исследования могут выполняться только в лабораториях с опытом работы в этой области. Результаты тестирования должны интерпретироваться специалистами с опытом диагностики ПЦД и должны быть объяснены больному и его окружению. Диагностические тесты при ПЦД в настоящее время недостаточно совершенны. По мере углубления знаний и усовершенствования методик для диагностики ПЦД больные с высоким клиническим подозрением на это заболевание или сомнительными результатами тестов могут быть обследованы повторно.

У многих больных результаты диагностических тестов не могут быть расценены как положительные, высоко- или крайне маловероятные. У таких пациентов результат обследования следует признать сомнительным; дальнейшие исследования и тактика ведения должны определяться специалистом с опытом ведения больных ПЦД.

Диагностический алгоритм

На основании оценки доказательств по рекомендациям GRADE и положений консенсуса Дельфи следует использовать пошаговый диагностический подход (см. рис. 4). Не все больные нуждаются в выполнении всех шагов алгоритма. У большинства пациентов шаг 1 (nNO и ВВА) показывает, что диагноз крайне маловероятен и больные не нуждаются в дальнейшем обследовании в этом направлении. В некоторых случаях требуется выполнение шага 2 (ПЭМ или культура клеток с повторным ВВА). Генетическое тестирование (шаг 3) может помочь в диагностике у больных, если другие методы не позволили установить окончательный диагноз. Если диагноз остается сомнительным, пациент должен быть обследован повторно в дальнейшем, после появления новых диагностических тестов. Такой под-

ход не может применяться во всех диагностических учреждениях; следует учитывать местный опыт и доступное оборудование.

Шаг 1: nNO и ВВА

Если результаты обоих методов в целом нормальные и диагноз ПЦД очень маловероятен, дальнейшее обследование больного не требуется, за исключением случаев с очень высоким клиническим подозрением. Если nNO низкий и / или при ВВА выявляется патология, диагноз ПЦД вероятен / возможен. Рекомендуется повторить шаг 1 и выполнить шаг 2.

Шаг 2: ПЭМ

Если результат ПЭМ нормальный, следует обсудить возможность генетического тестирования в отношении генов, связанных с нормальной ПЭМ или сла-

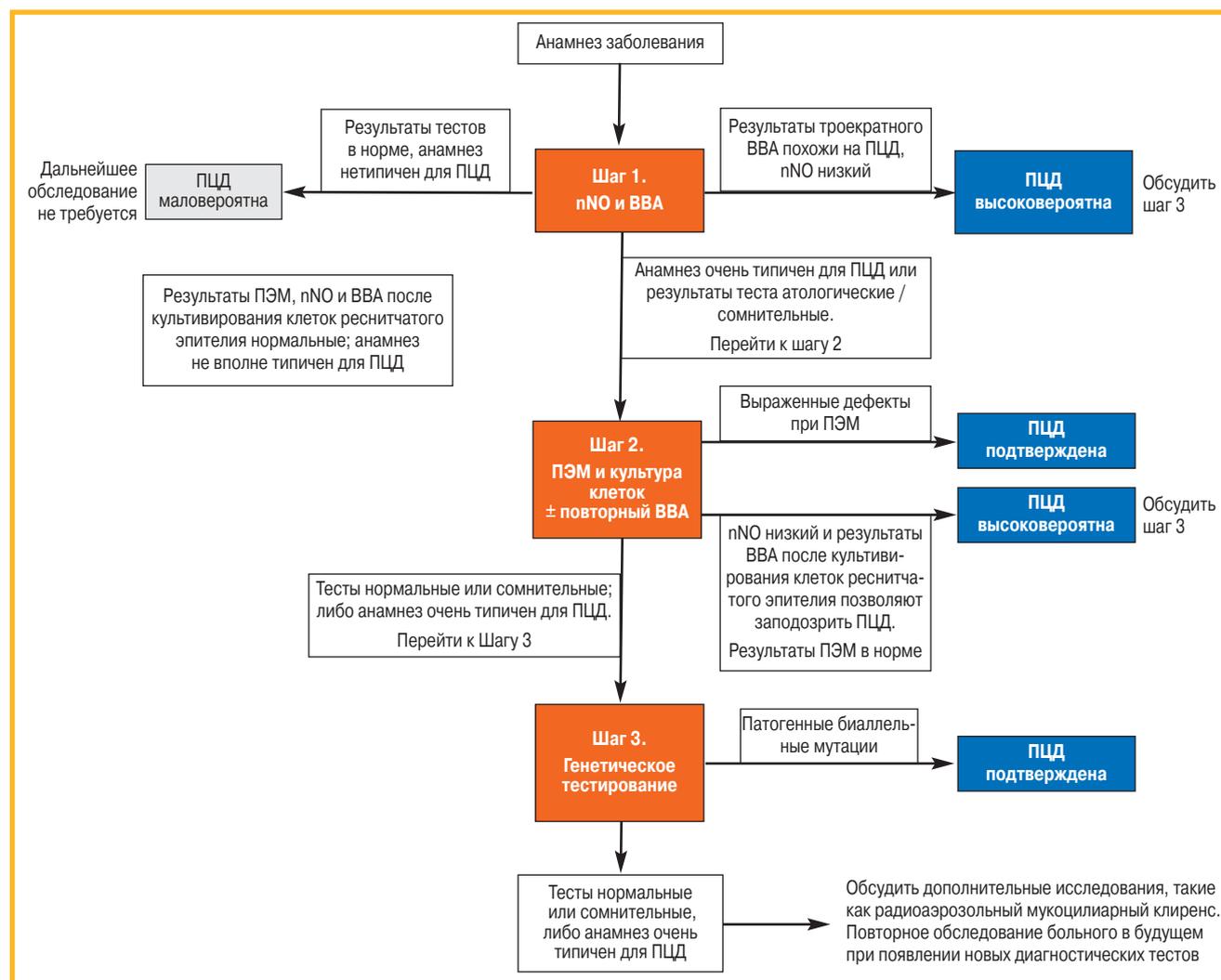


Рис. 4. Диагностический алгоритм для первичной цилиарной дискинезии составлен при помощи результатов опроса Дельфи в соответствии с принципами разработки клинических рекомендаций с использованием системы GRADE. Однако выполнение всех шагов алгоритма необходимо не всем больным. Подробности применения каждого диагностического теста, а также последствия для больных, у которых после использования всех доступных диагностических тестов диагноз по-прежнему остается сомнительным, см. в тексте. Больные с неопределенным результатом должны обследоваться повторно после появления новых диагностических тестов.

Примечание: ПЦД – первичная цилиарная дискинезия; ВВА – высокоскоростной видеомикроскопический анализ; nNO – назальный оксид азота, ПЭМ – трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия.

Figure 4. Following development of recommendations using the GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation) approach, a Delphi survey allowed us to propose a diagnostic algorithm for primary ciliary dyskinesia (PCD). Not all patients need to go through all steps. Please see the text for details of the implications of each diagnostic outcome (positive, highly likely and highly unlikely), as well as the consequences for patients who will continue to have an inconclusive outcome using currently available diagnostic tests. Patients with uncertain outcomes should be reconsidered for further testing as advances in diagnostic tests are made.

бовыраженными дефектами и повторить ВВА после культивирования клеток. Если при ПЭМ выявляются выраженные дефекты, диагноз ПЦД считается подтвержденным и следует обсудить возможность генетического тестирования для более точной характеристики генетических нарушений.

Шаг 3: Генетическое тестирование и повторный ВВА в культуре клеток

Дальнейшее обследование больного

Если у больного диагноз ПЦД высоковероятен или сомнителен, следует выполнить дальнейшие исследования, такие как ИФА или радиоаэрозольный анализ мукоцилиарного клиренса, но доказательства для рекомендации их клинического использования весьма ограничены. Врач должен повторно обследовать таких больных в будущем при появлении новых диагностических методов для ПЦД.

Обсуждение

Рабочая группа ERS представляет первые доказательные клинические рекомендации по диагностике ПЦД. Это своевременный шаг, поскольку в последние годы возрастает количество новых диагностических тестов (например, иммунофлюоресценция цилиарного протеина и генетическое тестирование) наряду с усовершенствованием прежних методик (электронно-микроскопическая томография, компьютерное усреднение и т. д.). По мере появления новых доказательств потребуется пересмотр данных клинических рекомендаций. Экспертами разработаны рекомендации по отбору пациентов, нуждающихся в направлении на диагностическое тестирование, и подтверждено, что в настоящее время отсутствует «золотой стандарт» в диагностике ПЦД, поэтому при подтверждении диагноза требуется сочетание нескольких диагностических тестов. При использовании модифицированного подхода Дельфи экспертами на основе доказательств, полученных для каждого теста, разработан диагностический алгоритм и критерии подтвержденного, маловероятного, крайне маловероятного и сомнительного диагноза.

Все исследования, использованные в разработке данных рекомендаций, выполнены в специализированных центрах ПЦД. Диагностические тесты в целом достаточно сложны, а анализ и интерпретация результатов требуют участия опытных исследователей и клиницистов. Таким образом, в данных рекомендациях представлены доказательства для диагностических центров с большим числом больных и высокой производительностью диагностического материала, который анализируется опытными исследователями и имеет хороший контроль качества. Новые диагностические центры должны направлять специалистов для обучения и поддержания / оценки контроля качества исследований в центры с более обширным опытом работы в этой области.

Программа исследований и тренинга для улучшения диагностики и лечения ПЦД координируется Международной ассоциацией BEATPCD COST ACTION (BM1407) (www.beatpcd.org/). Деятельность ассоциации включает организацию школ для обучения специалистов, стипендий для кратковременного обучения в специализированных центрах и профессиональные коммуникации для обсуждения сложных и неоднозначных клинических решений. Наряду с Европейской консультативной сетью по ПЦД (*European Reference Network for PCD*) сотрудничество разных специалистов будет способствовать разработке стандартов диагностического тестирования во всех странах Европы.

Результаты диагностических исследований являются непрямым критерием последствий применения данного теста, поэтому необходима диагностическая точность, по крайней мере от низкой до умеренной. Доказательства, полученные от пациентов, не влияют на силу опубликованных доказательств, но учитываются при оценке силы рекомендаций. Экспертами Рабочей группы проведено опрос больных ПЦД ($n = 352$) из 25 стран и 20 углубленных интервью [7]. По сообщениям больных, точный диагноз ПЦД был важным результатом обследования и приводил к более глубокому пониманию врачами проблем больных и эффективному лечению, при этом улучшились их здоровье и качество жизни.

После достижения соглашения по рекомендациям, сделанным Рабочей группой, для разработки консенсуса по диагностике был использован модифицированный опрос Дельфи. Эксперты Рабочей группы согласились, что по результатам ПЭМ и генетического тестирования может быть уверенно подтвержден диагноз ПЦД. Это дает возможность использовать эти тесты как в дальнейших клинических исследованиях, так и в клинической практике, но с учетом того, что у больных ПЦД с нормальной ультраструктурой ресничек нередко этот диагноз не ставится, если неизвестны соответствующие генетические мутации. Более того, большинство членов Рабочей группы ($> 50\%$) считают, что диагноз ПЦД можно подтвердить следующим сочетанием диагностических тестов, хотя консенсус в этом вопросе не был достигнут ($\geq 80\%$ экспертов): очень низкий $nNO +$ выраженные изменения при ВВА при 2 изменениях и очень низкий $nNO +$ выраженные изменения при ВВА в культуре клеток (см. табл. S11 Приложения). Экспертами также установлено, при каких состояниях диагноз ПЦД должен рассматриваться как очень вероятный, а при каких – как очень маловероятный. С учетом существующих сегодня рекомендаций нельзя исключить диагноз ПЦД со 100%-ной вероятностью, однако экспертами определены ситуации, когда дальнейшее обследование больного нецелесообразно. Ожидается, что по мере накопления объема информации о ПЦД будут описаны новые фенотипы этого крайне гетерогенного заболевания, которые не всегда можно выявить с помощью современных диагностических методов.

Недостатком всех исследований, использованных при написании данных рекомендаций, явилось отсутствие «золотого стандарта» в установлении точности отдельных тестов. Таким образом, экспертами проанализированы публикации, авторы которых из множества диагностических тестов сконструировали эталонный (композитный диагностический) стандарт [118]. Исследования, в которых использовались ПЭМ или генетическое тестирование в качестве эталонного стандарта, будут регулярно исключать ПЦД у больных с нормальной ультраструктурой ресничек или неизвестными генетическими мутациями. В то же время некоторые доказательства основаны на исследованиях, в которых указанные тесты были включены в композитное диагностическое решение. Такие важные недостатки порождают серьезный риск систематических ошибок и могут снизить или повысить специфичность и чувствительность, рассчитанные экспертами для каждого теста. Ни один из диагностических критериев не стал признанным в мире стандартом. В результате этого в различных исследованиях использованы разные диагностические методы. Эксперты Рабочей группы полагают, что для более четкого понимания диагностического тестирования при ПЦД необходимо принимать во внимание следующие положения:

- в дизайн будущих исследований следует вовлекать методиста для определения диагностической точности тестов. Необходимо также учитывать отсутствие совершенного эталонного стандарта;
- для возможности сравнивать результаты разных исследований нужны международные стандарты по выполнению диагностических тестов и представлению результатов;
- описание клинического фенотипа больного ПЦД в рамках диагностических исследований следует усовершенствовать и стандартизировать;
- необходимо изучить влияние результата диагностики на качество жизни больного и исходы заболевания.

Адаптированный перевод к. м. н. Чижиной С.Ю.
Adapted translation – Svetlana Yu. Chikina, Candidate of Medicine

Литература / References

1. Lucas J.S., Leigh M.W. Diagnosis of primary ciliary dyskinesia: searching for a gold standard. *Eur. Respir. J.* 2014; 44 (6): 1418–1422. DOI: 10.1183/09031936.00175614.
2. Barbato A., Frischer T., Kuehni C.E. et al. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur. Respir. J.* 2009; 34 (6): 1264–1276. DOI: 10.1183/09031936.00176608.
3. Kuehni C.E., Frischer T., Strippoli M.P. et al. Factors influencing age at diagnosis of primary ciliary dyskinesia in European children. *Eur. Respir. J.* 2010; 36 (6): 1248–1258. DOI: 10.1183/09031936.00001010.
4. Strippoli M.P., Frischer T., Barbato A. et al. Management of primary ciliary dyskinesia in European children: recommendations and clinical practice. *Eur. Respir. J.* 2012; 39 (6): 1482–1491. DOI: 10.1183/09031936.00073911.
5. Schünemann H.J., Oxman A.D., Brozek J. et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations for

- diagnostic tests and strategies. *BMJ.* 2008; 336: 1106–1110. DOI: 10.1136/bmj.39500.677199.AE.
6. Guyatt G.H., Oxman A.D., Kunz R. et al. GRADE guidelines: 2. Framing the question and deciding on important outcomes. *J. Clin. Epidemiol.* 2011; 64 (4): 395–400. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.09.012.
7. Behan L., Dunn Galvin A., Rubbo B. et al. Diagnosing primary ciliary dyskinesia; an international patient perspective. *Eur. Respir. J.* 2016; 48 (4): 1096–1107. DOI: 10.1183/13993003.02018-2015.
8. Balshem H., Helfand M., Schünemann H.J. et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence. *J. Clin. Epidemiol.* 2011; 64 (4): 401–406. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.07.015.
9. Andrews J.C., Schünemann H.J., Oxman A.D. et al. GRADE guidelines: 15. Going from evidence to recommendation: determinants of a recommendation's direction and strength. *J. Clin. Epidemiol.* 2013; 66 (7): 726–735. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2013.02.003.
10. Behan L., Dimitrov B.D., Kuehni C.E. et al. PICADAR: a diagnostic predictive tool for primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2016; 47 (4): 1103–1112. DOI: 10.1183/13993003.01551-2015.
11. Shapiro A.J., Chawla K.K., Baker B.R. et al. Nasal nitric oxide and clinical characteristics of patients with heterotaxy: comparison to primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183: A1209. DOI: 10.1164/ajrccm-conference.2011.183.1_MeetingAbstracts.A1209.
12. Leigh M.W., Ferkol T.W., Davis S.D. et al. Clinical features and associated likelihood of primary ciliary dyskinesia in children and adolescents. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016; 13 (8): 1305–1313. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201511-748OC.
13. Noll E.M., Rieger C.H.L., Hamelmann E., Nüßlein T.G. Questionnaire to preselect patients with a high probability of primary ciliary dyskinesia. *Klin. Padiatr.* 2011; 223 (1): 22–26. DOI: 10.1055/s-0030-1263136.
14. Chin G.Y., Karas D.E., Kashgarian M. Correlation of presentation and pathologic condition in primary ciliary dyskinesia. *Arch. Otolaryngol. Head Neck. Surg.* 2002; 128 (11): 1292–1294. DOI: 10.1001/archotol.128.11.1292.
15. Beucher J., Chambellan A., Segalen J., Deneuville E. Primary ciliary dyskinesia: a retrospective review of clinical and paraclinical data. *Rev. Mal. Respir.* 2011; 28 (7): 856–863. DOI: 10.1016/j.rmr.2011.02.014.
16. Pifferi M., Bush A., Michelucci A. et al. Mannose-binding lectin 2 gene polymorphism and lung damage in primary ciliary dyskinesia. *Pediatr. Pulmonol.* 2015; 50 (2): 179–186. DOI: 10.1002/ppul.23026.
17. Mullowney T., Manson D., Kim R. et al. Primary ciliary dyskinesia and neonatal respiratory distress. *Pediatrics.* 2014; 134 (6): 1160–1166.
18. Goutaki M., Meier A.B., Halbeisen F.S. et al. Clinical manifestations in primary ciliary dyskinesia: a systematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2016; 48 (4): 1081–1095. DOI: 10.1183/13993003.00736-2016.
19. Walker W.T., Jackson C.L., Lackie P.M. et al. Nitric oxide in primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2012; 40 (4): 1024–1032. DOI: 10.1183/09031936.00176111.
20. Collins S.A., Gove K., Walker W. et al. Nasal nitric oxide screening for primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2014; 44 (6): 1589–1599. DOI: 10.1183/09031936.00088614.
21. American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized proce-

- dures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171 (8): 912–930. DOI: 10.1164/rccm.200406-710ST.
22. Beydon N., Chambellan A., Alberti C. et al. Technical and practical issues for tidal breathing measurements of nasal nitric oxide in children. *Pediatr. Pulmonol.* 2015; 50 (12): 1374–1382. DOI: 10.1002/ppul.23167.
 23. Marthin J.K., Nielsen K.G. Hand-held tidal breathing nasal nitric oxide measurement – a promising targeted case-finding tool for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *PLoS One.* 2013; 8 (2): e57262. DOI: 10.1371/journal.pone.0057262.
 24. Marthin J.K., Nielsen K.G. Choice of nasal nitric oxide technique as first-line test for primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2011; 37 (3): 559–565. DOI: 10.1183/09031936.00032610.
 25. Leigh M.W., Hazucha M.J., Chawla K.K. et al. Standardizing nasal nitric oxide measurement as a test for primary ciliary dyskinesia. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2013; 10 (6): 574–581. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201305-110OC.
 26. Jackson C.L., Behan L., Collins S.A. et al. Accuracy of diagnostic testing in primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2016; 47 (3): 837–848. DOI: 10.1183/13993003.00749-2015.
 27. Harris A., Bhullar E., Gove K. et al. Validation of a portable nitric oxide analyzer for screening in primary ciliary dyskinesias. *BMC Pulm. Med.* 2014; 14: 18. DOI: 10.1186/1471-2466-14-18.
 28. Struben V.M., Wieringa M.H., Mantingh C.J. et al. Nasal NO: normal values in children age 6 through to 17 years. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (3): 453–457. DOI: 10.1183/09031936.05.00015205.
 29. Adams P.S., Tian X., Zahid M. et al. Establishing normative nasal nitric oxide values in infants. *Respir. Med.* 2015; 109 (9): 1126–1130. DOI: 10.1016/j.rmed.2015.07.010.
 30. Olbrich H., Cremers C., Loges N.T. et al. Loss-of-function GAS8 mutations cause primary ciliary dyskinesia and disrupt the nexin-dynein regulatory complex. *Am. J. Hum. Genet.* 2015; 97 (4): 546–554. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.08.012.
 31. Knowles M.R., Ostrowski L.E., Leigh M.W. et al. Mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with a unique clinical and ciliary phenotype. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 189 (6): 707–717. DOI: 10.1164/rccm.201311-2047OC.
 32. Kott E., Legendre M., Copin B. et al. Loss-of-function mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with central-complex and radial-spoke defects. *Am. J. Hum. Genet.* 2013; 93 (3): 561–570. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.07.013.
 33. Afzelius B.A. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science.* 1976; 193 (4250): 317–319. DOI: 10.1126/science.1084576.
 34. Rayner C.F., Rutman A., Dewar A. et al. Ciliary disorientation alone as a cause of primary ciliary dyskinesia syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153 (3): 1123–1129. DOI: 10.1164/ajrccm.153.3.8630555.
 35. Chapelin C., Coste A., Reinert P. et al. Incidence of primary ciliary dyskinesia in children with recurrent respiratory diseases. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 1997; 106 (10, Pt 1): 854–858. DOI: 10.1177/000348949710601008.
 36. Santamaria M.M., de Santi G., Grillo F. Ciliary motility at light microscopy: a screening technique for ciliary defects? *Acta. Paediatr.* 1999; 88 (8): 853–857.
 37. Jorissen M., Willems T., Van der Schueren B. et al. Ultrastructural expression of primary ciliary dyskinesia after ciliogenesis in culture. *Acta. Otorhinolaryngol. Belg.* 2000; 54 (3): 343–356.
 38. Toskala-Hannikainen E., Haataja J., Shirasaki H. et al. Culture of cells harvested with nasal brushing: a method for evaluating ciliary function. *Rhinology.* 2005; 43 (2): 121–124.
 39. Pifferi M., Montemurro F., Cangiotti A.M. et al. Simplified cell culture method for the diagnosis of atypical primary ciliary dyskinesia. *Thorax.* 2009; 64 (12): 1077–1081. DOI: 10.1136/thx.2008.110940.
 40. Hirst R.A., Jackson C.L., Coles J.L. et al. Culture of primary ciliary dyskinesia epithelial cells at air-liquid interface can alter ciliary phenotype but remains a robust and informative diagnostic aid. *PLoS One.* 2014; 9 (2): e89675. DOI: 10.1371/journal.pone.0089675.
 41. Chilvers M.A., O’Callaghan C. Analysis of ciliary beat pattern and beat frequency using digital high speed imaging: comparison with the photomultiplier and photodiode methods. *Thorax.* 2000; 55 (4): 314–317. DOI: 10.1136/thorax.55.4.314.
 42. Papon J.F., Bassinet L., Cariou-Patron G. et al. Quantitative analysis of ciliary beating in primary ciliary dyskinesia: a pilot study. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2012; 7: 78. DOI: 10.1186/1750-1172-7-78.
 43. Friedman N.R., Pachigolla R., Deskin R.W. et al. Optimal technique to diagnose primary ciliary dyskinesia. *Laryngoscope.* 2000; 110 (9): 1548–1551. DOI: 10.1097/00005537-200009000-00026.
 44. Chilvers M.A., Rutman A., O’Callaghan C. Ciliary beat pattern is associated with specific ultrastructural defects in primary ciliary dyskinesia. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003; 112 (3): 518–524.
 45. Raidt J., Wallmeier J., Hjej R. et al. Ciliary beat pattern and frequency in genetic variants of primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2014; 44 (6): 1579–1588. DOI: 10.1183/09031936.00052014.
 46. Pifferi M., Bush A., Montemurro F. et al. Rapid diagnosis of primary ciliary dyskinesia: cell culture and soft computing analysis. *Eur. Respir. J.* 2013; 41 (4): 960–965. DOI: 10.1183/09031936.00039412.
 47. Jorissen M., Willems T., Van der Schueren B. Ciliary function analysis for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia: advantages of ciliogenesis in culture. *Acta. Otolaryngol.* 2000; 120 (2): 291–295.
 48. Stannard W.A., Chilvers M.A., Rutman A.R. et al. Diagnostic testing of patients suspected of primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181 (4): 307–314. DOI: 10.1164/rccm.200903-0459OC.
 49. Schwabe G.C., Hoffmann K., Loges N.T. et al. Primary ciliary dyskinesia associated with normal axoneme ultrastructure is caused by DNAH11 mutations. *Hum. Mutat.* 2008; 29 (2): 289–298. DOI: 10.1002/humu.20656.
 50. Sturgess J.M., Turner J.A. Ultrastructural pathology of cilia in the immotile cilia syndrome. *Perspect. Pediatr. Pathol.* 1984; 8 (2): 133–161.
 51. Rutland J., Dewar A., Cox T. et al. Nasal brushing for the study of ciliary ultrastructure. *J. Clin. Pathol.* 1982; 35 (3): 357–359. DOI: 10.1136/jcp.35.3.357.
 52. Pifferi M., Caramella D., Cangiotti A.M. et al. Nasal nitric oxide in atypical primary ciliary dyskinesia. *Chest.* 2007; 131 (3): 870–873. DOI: 10.1378/chest.06-2472.
 53. Hirst R.A., Rutman A., Williams G. et al. Ciliated air-liquid cultures as an aid to diagnostic testing of primary cil-

- primary dyskinesia. *Chest*. 2010; 138 (6): 1441–1447. DOI: 10.1378/chest.10-0175.
54. Papon J.F., Coste A., Roudot-Thoraval F. et al. A 20-year experience of electron microscopy in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2010; 35 (5): 1057–1063. DOI: 10.1183/09031936.00046209.
 55. Olm M.A., Kögler J.E., Macchione M. et al. Primary ciliary dyskinesia: evaluation using cilia beat frequency assessment via spectral analysis of digital microscopy images. *J. Appl. Physiol.* 2011; 111 (1): 295–302. DOI: 10.1152/jappphysiol.00629.2010.
 56. Shoemark A., Dixon M., Corrin B. et al. Twenty-year review of quantitative transmission electron microscopy for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *J. Clin. Pathol.* 2012; 65 (3): 267–271. DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200415.
 57. Munkholm M., Nielsen K.G., Mortensen J. Clinical value of measurement of pulmonary radioaerosol mucociliary clearance in the work up of primary ciliary dyskinesia. *EJNMMI Res.* 2015; 5: 39. DOI: 10.1186/s13550-015-0118-y.
 58. Olin J.T., Burns K., Carson J.L. et al. Diagnostic yield of nasal scrape biopsies in primary ciliary dyskinesia: a multi-center experience. *Pediatr. Pulmonol.* 2011; 46 (5): 483–488. DOI: 10.1002/ppul.21402.
 59. Boon M., Smits A., Cuppens H. et al. Primary ciliary dyskinesia: critical evaluation of clinical symptoms and diagnosis in patients with normal and abnormal ultrastructure. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2014; 9: 11. DOI: 10.1186/1750-1172-9-11.
 60. Escudier E., Couprie M., Duriez B. et al. Computer-assisted analysis helps detect inner dynein arm abnormalities. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166 (9): 1257–1262. DOI: 10.1164/rccm.2111070.
 61. Funkhouser W.K., Niethammer M., Carson J.L. et al. A new tool improves diagnostic test performance for transmission electron microscopy evaluation of axonemal dynein arms. *Ultrastruct. Pathol.* 2014; 38 (4): 248–255. DOI: 10.3109/01913123.2013.815081.
 62. Smith C.M., Hirst R.A., Bankart M.J. et al. Cooling of cilia allows functional analysis of the beat pattern for diagnostic testing. *Chest*. 2011; 140 (1): 186–190. DOI: 10.1378/chest.10-1920.
 63. Shoemark A., Hogg C. Electron tomography of respiratory cilia. *Thorax*. 2013; 68 (2): 190–191. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2012-202938.
 64. Wallmeier J., Al-Mutairi D.A., Chen C.T. et al. Mutations in CCNO result in congenital mucociliary clearance disorder with reduced generation of multiple motile cilia. *Nat. Genet.* 2014; 46 (6): 646–651. DOI: 10.1038/ng.2961.
 65. Olbrich H., Häffner K., Kispert A. et al. Mutations in DNAH5 cause primary ciliary dyskinesia and randomization of left-right asymmetry. *Nat. Genet.* 2002; 30 (2): 143–144. DOI: 10.1038/ng817.
 66. Pennarun G., Escudier E., Chapelin C. et al. Loss-of-function mutations in a human gene related to *Chlamydomonas reinhardtii* dynein IC78 result in primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Hum. Genet.* 1999; 65 (6): 1508–1519. DOI: 10.1086/302683.
 67. Loges N.T., Olbrich H., Fenske L. et al. DNAI2 mutations cause primary ciliary dyskinesia with defects in the outer dynein arm. *Am. J. Hum. Genet.* 2008; 83 (5): 547–558. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.10.001.
 68. Duriez B., Duquesnoy P., Escudier E. et al. A common variant in combination with a nonsense mutation in a member of the thioredoxin family causes primary ciliary dyskinesia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (9): 3336–3341. DOI: 10.1073/pnas.0611405104.
 69. Mazor M., Alkrinawi S., Chalifa-Caspi V. et al. Primary ciliary dyskinesia caused by homozygous mutation in DNAL1, encoding dynein light chain 1. *Am. J. Hum. Genet.* 2011; 88 (5): 599–607. DOI: 10.1016/j.ajhg.2011.03.018.
 70. Hjeij R., Onoufriadis A., Watson C.M. et al. CCDC151 mutations cause primary ciliary dyskinesia by disruption of the outer dynein arm docking complex formation. *Am. J. Hum. Genet.* 2014; 95 (3): 257–274. DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.08.005.
 71. Onoufriadis A., Paff T., Antony D. et al. Splice-site mutations in the axonemal outer dynein arm docking complex gene CCDC114 cause primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Hum. Genet.* 2013; 92 (1): 88–98. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.11.002.
 72. Onoufriadis A., Shoemark A., Munye M.M. et al. Combined exome and whole-genome sequencing identifies mutations in ARMC4 as a cause of primary ciliary dyskinesia with defects in the outer dynein arm. *J. Med. Genet.* 2014; 51 (1): 61–67. DOI: 10.1136/jmedgenet-2013-101938.
 73. Panizzi J.R., Becker-Heck A., Castleman V.H. et al. CCDC103 mutations cause primary ciliary dyskinesia by disrupting assembly of ciliary dynein arms. *Nat. Genet.* 2012; 44 (6): 714–719. DOI: 10.1038/ng.2277.
 74. Tarkar A., Loges N.T., Slagle C.E. et al. DYX1C1 is required for axonemal dynein assembly and ciliary motility. *Nat. Genet.* 2013; 45 (9): 995–1003. DOI: 10.1038/ng.2707.
 75. Knowles M.R., Ostrowski L.E., Loges N.T. et al. Mutations in SPAG1 cause primary ciliary dyskinesia associated with defective outer and inner dynein arms. *Am. J. Hum. Genet.* 2013; 93 (4): 711–720. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.07.025.
 76. Horani A., Ferkol T.W., Shoseyov D. et al. LRRC6 mutation causes primary ciliary dyskinesia with dynein arm defects. *PLoS One.* 2013; 8 (3): e59436. DOI: 10.1371/journal.pone.0059436.
 77. Omran H., Kobayashi D., Olbrich H. et al. Ktu/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature.* 2008; 456 (7222): 611–616. DOI: 10.1038/nature07471.
 78. Duquesnoy P., Escudier E., Vincensini L. et al. Loss-of-function mutations in the human ortholog of *Chlamydomonas reinhardtii* ODA7 disrupt dynein arm assembly and cause primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Hum. Genet.* 2009; 85 (6): 890–896. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.11.008.
 79. Loges N.T., Olbrich H., Becker-Heck A. et al. Deletions and point mutations of LRRC50 cause primary ciliary dyskinesia due to dynein arm defects. *Am. J. Hum. Genet.* 2009; 85 (6): 883–889. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.10.018.
 80. Austin-Tse C., Halbritter J., Zariwala M.A. et al. Zebrafish ciliopathy screen plus human mutational analysis identifies C21orf59 and CCDC65 defects as causing primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Hum. Genet.* 2013; 93 (4): 672–686. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.08.015.
 81. Mitchison H.M., Schmidts M., Loges N.T. et al. Mutations in axonemal dynein assembly factor DNAAF3 cause primary ciliary dyskinesia. *Nat. Genet.* 2012; 44 (4): 381–389. DOI: 10.1038/ng.1106.
 82. Zariwala M.A., Gee H.Y., Kurkowiak M. et al. ZMYND10 is mutated in primary ciliary dyskinesia and interacts with

- LRRC6. *Am. J. Hum. Genet.* 2013; 93 (2): 336–345. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.06.007.
83. Horani A., Druley T.E., Zariwala M.A. et al. Whole-exome capture and sequencing identifies HEATR2 mutation as a cause of primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Hum. Genet.* 2012; 91 (4): 685–693. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.08.022.
 84. Olbrich H., Schmidts M., Werner C. et al. Recessive HYDIN mutations cause primary ciliary dyskinesia without randomization of left-right body asymmetry. *Am. J. Hum. Genet.* 2012; 91 (4): 672–684. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.08.016.
 85. Jeanson L., Copin B., Papon J.-F. et al. RSPH3 mutations cause primary ciliary dyskinesia with central-complex defects and a near absence of radial spokes. *Am. J. Hum. Genet.* 2015; 97 (1): 153–162. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.05.004.
 86. Frommer A., Hjeij R., Loges N.T. et al. Immunofluorescence analysis and diagnosis of primary ciliary dyskinesia with radial spoke defects. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2015; 53 (4): 563–573. DOI: 10.1165/rcmb.2014-0483OC.
 87. Wirschell M., Olbrich H., Werner C. et al. The nexin-dynein regulatory complex subunit DRC1 is essential for motile cilia function in algae and humans. *Nat. Genet.* 2013; 45 (3): 262–268. DOI: 10.1038/ng.2533.
 88. Horani A., Brody S.L., Ferkol T.W. et al. CCDC65 mutation causes primary ciliary dyskinesia with normal ultrastructure and hyperkinetic cilia. *PLoS One.* 2013; 8 (8): e72299. DOI: 10.1371/journal.pone.0072299.
 89. Merveille A.C., Davis E.E., Becker-Heck A. et al. CCDC39 is required for assembly of inner dynein arms and the dynein regulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs. *Nat. Genet.* 2011; 43 (1): 72–78. DOI: 10.1038/ng.726.
 90. Becker-Heck A., Zohn I.E., Okabe N. et al. The coiled-coil domain containing protein CCDC40 is essential for motile cilia function and left-right axis formation. *Nat. Genet.* 2011; 43 (1): 79–84. DOI: 10.1038/ng.727.
 91. Moore A., Escudier E., Roger G. et al. RPGR is mutated in patients with a complex X linked phenotype combining primary ciliary dyskinesia and retinitis pigmentosa. *J. Med. Genet.* 2006; 43 (4): 326–333. DOI: 10.1136/jmg.2005.034868.
 92. Budny B., Chen W., Omran H. et al. A novel X-linked recessive mental retardation syndrome comprising macrocephaly and ciliary dysfunction is allelic to oral-facial-digital type I syndrome. *Hum. Genet.* 2006; 120 (2): 171–178. DOI: 10.1007/s00439-006-0210-5.
 93. Boon M., Wallmeier J., Ma L. et al. MCIDAS mutations result in a mucociliary clearance disorder with reduced generation of multiple motile cilia. *Nat. Commun.* 2014; 5: 4418. DOI: 10.1038/ncomms5418.
 94. Fliegauf M., Olbrich H., Horvath J. et al. Mislocalization of DNAH5 and DNAH9 in respiratory cells from patients with primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171 (12): 1343–1349. DOI: 10.1164/rccm.200411-1583OC.
 95. Hornef N., Olbrich H., Horvath J. et al. DNAH5 mutations are a common cause of primary ciliary dyskinesia with outer dynein arm defects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174 (2): 120–126. DOI: 10.1164/rccm.200601-084OC.
 96. Knowles M.R., Leigh M.W., Carson J.L. et al. Mutations of DNAH11 in patients with primary ciliary dyskinesia with normal ciliary ultrastructure. *Thorax.* 2012; 67 (5): 433–441. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2011-200301.
 97. Dougherty G.W., Loges N.T., Klinkenbusch J.A. et al. DNAH11 localization in the proximal region of respiratory cilia defines distinct outer dynein arm complexes. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2016; 55 (2): 213–224. DOI: 10.1165/rcmb.2015-0353OC.
 98. Hjeij R., Lindstrand A., Francis R. et al. ARMC4 mutations cause primary ciliary dyskinesia with randomization of left/right body asymmetry. *Am. J. Hum. Genet.* 2013; 93 (2): 357–367. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.06.009.
 99. Kott E., Duquesnoy P., Copin B. et al. Loss-of-function mutations in LRRC6, a gene essential for proper axonemal assembly of inner and outer dynein arms, cause primary ciliary dyskinesia. *Am. J. Hum. Genet.* 2012; 91 (5): 958–964. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.10.003.
 100. Kurkowiak M., Ziętkiewicz E., Greber A. et al. ZMYND10 – mutation analysis in slavic patients with primary ciliary dyskinesia. *PLoS One.* 2016; 11 (1): e0148067. DOI: 10.1371/journal.pone.0148067.
 101. Diggle C.P., Moore D.J., Mali G. et al. HEATR2 plays a conserved role in assembly of the ciliary motile apparatus. *PLoS Genet.* 2014; 10 (9): e1004577. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004577.
 102. Onoufriadis A., Shoemark A., Schmidts M. et al. Targeted NGS gene panel identifies mutations in RSPH1 causing primary ciliary dyskinesia and a common mechanism for ciliary central pair agenesis due to radial spoke defects. *Hum. Mol. Genet.* 2014; 23 (13): 3362–3374. DOI: 10.1093/hmg/ddu046.
 103. Antony D., Becker-Heck A., Zariwala M.A. et al. Mutations in CCDC39 and CCDC40 are the major cause of primary ciliary dyskinesia with axonemal disorganization and absent inner dynein arms. *Hum. Mutat.* 2013; 34 (3): 462–472. DOI: 10.1002/humu.22261.
 104. Zietkiewicz E., Loges N.T., Wittmer M. et al. RPGR mutations might cause reduced orientation of respiratory cilia. *Pediatr. Pulmonol.* 2013; 48 (4): 352–363. DOI: 10.1002/ppul.22632.
 105. Zariwala M.A., Leigh M.W., Ceppia F. et al. Mutations of DNA11 in primary ciliary dyskinesia: evidence of founder effect in a common mutation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174 (8): 858–866. DOI: 10.1164/rccm.200603-370OC.
 106. Amirav I., Wallmeier J., Loges N.T. et al. Systematic analysis of CCNO variants in a defined population: implications for clinical phenotype and differential diagnosis. *Hum. Mutat.* 2016; 37 (4): 396–405. DOI: 10.1002/humu.22957.
 107. 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.
 108. Lucas J.S., Adam E.C., Goggin P.M. et al. Static respiratory cilia associated with mutations in Dnahc11/ DNAH11: a mouse model of PCD. *Hum. Mutat.* 2012; 33 (3): 495–503. DOI: 10.1002/humu.22001.
 109. Davis S.D., Ferkol T.W., Rosenfeld M. et al. Clinical features of childhood primary ciliary dyskinesia by genotype and ultrastructural phenotype. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 191 (3): 316–324. DOI: 10.1164/rccm.201409-1672OC.
 110. Marshall C.R., Scherer S.W., Zariwala M.A. et al. Whole-exome sequencing and targeted copy number analysis in

- primary ciliary dyskinesia. *G3* (Bethesda). 2015; 5 (8): 1775–1781. DOI: 10.1534/g3.115.019851.
111. Djakow J., Svobodová T., Hrach K. et al. Effectiveness of sequencing selected exons of DNAH5 and DNAI1 in diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Pediatr. Pulmonol.* 2012; 47 (9): 864–875. DOI: 10.1002/ppul.22520.
112. Faily M., Bartoloni L., Letourneau A. et al. Mutations in DNAH5 account for only 15% of a non-preselected cohort of patients with primary ciliary dyskinesia. *J. Med. Genet.* 2009; 46 (4): 281–286. DOI: 10.1136/jmg.2008.061176.
113. Blanchon S., Legendre M., Copin B. et al. Delineation of CCDC39/CCDC40 mutation spectrum and associated phenotypes in primary ciliary dyskinesia. *J. Med. Genet.* 2012; 49 (6): 410–416. DOI: 10.1136/jmedgenet-2012-100867.
114. Claustres M., Kožich V., Dequeker E. et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *Eur. J. Hum. Genet.* 2014; 22 (2): 160–170. DOI: 10.1038/ejhg.2013.125.
115. Matthijs G., Souche E., Alders M. et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur. J. Hum. Genet.* 2016; 24 (1): 2–5. DOI: 10.1038/ejhg.2015.226.
116. Omran H., Loges N.T. Immunofluorescence staining of ciliated respiratory epithelial cells. *Methods Cell. Biol.* 2009; 91: 123–133. DOI: 10.1016/S0091-679X(08)91007-4.
117. Werner C., Lablans M., Ataian M. et al. An international registry for primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2016; 47 (3): 849–859. DOI: 10.1183/13993003.00776-2015.
118. Rutjes A.W., Reitsma J.B., Coomarasamy A. et al. Evaluation of diagnostic tests when there is no gold standard. A review of methods. *Health Technol. Assess.* 2007; 11 (50): iii.

Поступила 22.12.17