УДК 61:615.1(043.2)
ББК 5

СПЕКТР МУТАЦИЙ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Бородин Д. И., Чайковская А. М.
Научный руководитель: Чаплинская Е.В.

Белорусский государственный медицинский университет, кафедра биологии, г. Минск

Ключевые слова: муковисцидоз, эпидемиология, генетика, мутация, идентификация.

Резюме. Статья посвящена анализу видов и типов мутаций гена MBTP в Республике Беларусь. Проведено ретроспективное исследование частоты различных видов мутаций у 208 пациентов с муковисцидозом и проспективное генетическое обследование 36 пациентов с применением современных методов анализа. Показано, что доминируют «тяжелые» мутации гена MBTP (95,5%) с преобладанием F508del (64,71%).

Summary. The article is devoted to the analysis of the types and types of mutations of the CFTR gene in the Republic of Belarus. A retrospective study of the frequencies of different types of mutations in 208 patients with cystic fibrosis and a prospective genetic examination of 36 patients using modern methods of analysis were carried out. It was shown that “severe” mutations of the CFTP gene (95.5%) dominated with F508del (64.71%) dominated.

Актуальность. Муковисцидоз (МВ) – распространенное наследственное заболевание, при котором нарушается работа особого белка – муковисцидозного трансмембранного регулятора (MBTP), который отвечает за транспорт ионов хлора в клетках [2, 4]. МВ вызван мутацией гена, расположенного на длинном плече 7-ой хромосомы, тип наследования – аутосомно-рецессивный [3, 6].

Во всем мире самой распространенной является тяжелая мутация – F508del , которая встречается у 66% – 70% пациентов [8,9]. Разработана классификация, согласно которой выделяют шесть отдельных классов мутаций гена MBTP, которые могут приводить к полному отсутствию специфического белка, уменьшению его количества, изменению структуры и функции, и этим обуславливается различное течение заболевания [6]. Мутации I-III классов считаются «тяжелыми», а IV-VI классов − «мягкими». У пациентов, являющихся гомозигатами по F508del, заболевание протекает тяжелее, чем при сочетании F508del с какой-нибудь «мягкой» мутацией (рис. 1). В 2012 году было разработано лекарственное средство Ivacaftor для лечения пациентов с мутацией G551D в гене MBTP и в составе комбинированной терапии пациентов с мутацией F508del. Таким образом, анализ видов мутаций гена MBTP в белорусской популяции является актуальным и практически значимым.

Репозиторий БГМУ

УДК 61:615.1(043.2)
ББК 5

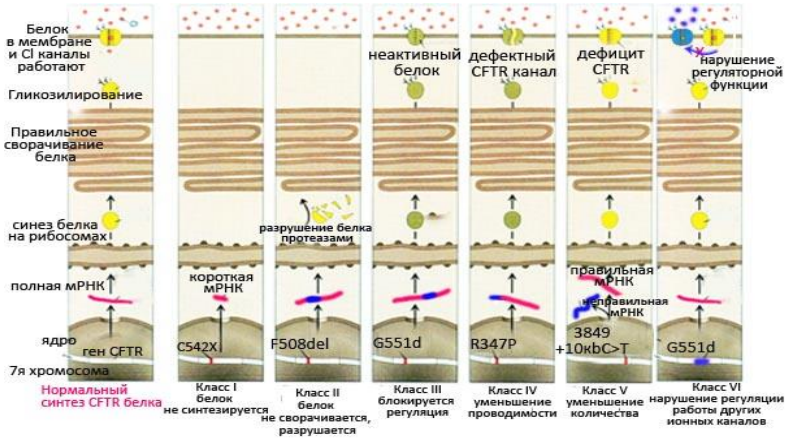

Рис.1 - Классификация мутаций гена CFTR по классам

Цель: Оценка динамики эпидемиологических данных по муковисцидозу в Республике Беларусь. Сравнительный анализ частоты встречаемости различных видов и типов мутаций гена МВТР в белорусской популяции.

Задачи исследования:

1) Анализ динамики эпидемиологических данных по МВ в РБ;
2) Ретроспективный анализ видов и классов мутаций в белорусской популяции;
3) Проспективное углубленное исследование спектра мутаций гена МВТР.

Материалы и методы исследования. Проанализированы данные официальной статистики по распространенности МВ в Республике Беларусь (РБ).

Проведен ретроспективный сплошной анализ результатов генетического обследования (на 30 наиболее распространенных мутаций) 208 пациентов с МВ (в том числе уже умерших) в институте генетики РНПЦ «Мать и дитя» за период с 1995 года. Характеристика пациентов (средний возраст, лет – 14,2±2,3; гендерная характеристика, ж/м – 106/102).

Проведено проспективное исследование видов и классов мутаций у 36 взрослых пациентов с МВ (средний возраст, лет – 24,9±1,5; гендерная характеристика, ж/м – 19/17) в 2018 году (углубленный генетический анализ).

Критерии включения в проспективное исследование:

1) диагноз муковисцидоза на основе клинических данных, подтвержденный положительным потовым тестом.

2) возраст старше 18 лет

Методы генетического анализа:

1. ДНК секвенирование (Sanger) (PNAS USA, 1977) - для подтверждения мутаций МВТР.

2. Секвенирование нового поколения (NGS) MiSeq (illumina) с использованием анализа Devyser CFTR NGS, охватывающего все кодирующие экзоны CFTR и все смежные границы экзона / интрона, включая минимум 20 пар нуклеотидов, проксимальнее 5'-конца, и 10 пар нуклеотидов, дистальнее 3'- конца каждой границы экзонов.

Статистическая обработка материалов исследований выполнялась с помощью пакета Statistica 6.0 for Windows, Biostat 4.03 for Windows [5].

Результаты и их обсуждение. На сегодняшний день в РБ состоят на учете 202 пациента с МВ, среди которых 25% − старше 18 лет. Количество взрослых пациентов лет с 2004 года выросло почти в 3,5 раза, а медиана их возраста увеличилась на 29% и составила 25,8 лет (рис. 2).

УДК 61:615.1(043.2)
ББК 5

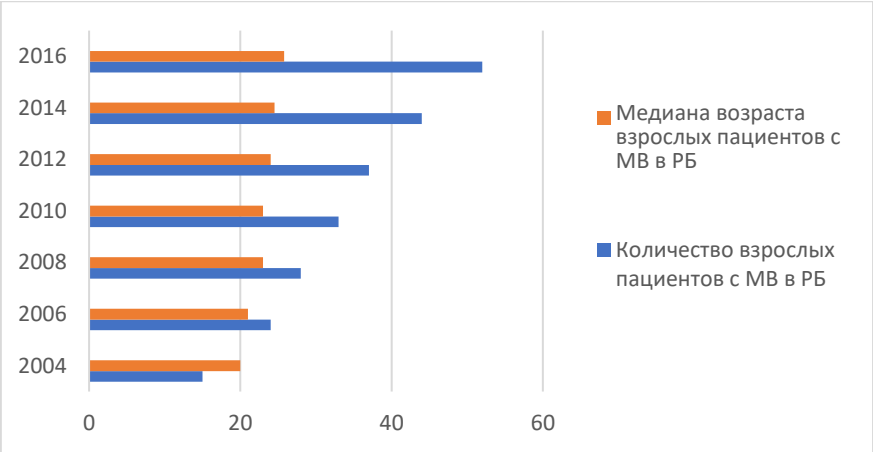

Рис. 2 – Динамика количества и медианы возраста взрослых пациентов с МВ в РБ

Ретроспективный анализ видов мутаций в белорусской популяции с 1995 года

Анализ показал, что наиболее распространенной мутацией в РБ, как и в других странах, является F508del – 62,50% случаев (35,58% случаев – гомозиготы). Другими распространенными мутациями являлись: CFTRdele2,3(21kb) − 7,21% случаев, 2184insA − 4,81% и N1303K−2,64% случаев. При распределении мутаций по классам оказалось, что «тяжелые» (I − III классов) мутации преобладают, а «мягкие» мутации встречаются только в 4,56% случаев. Мутация G551D (VI класс), для лечения которой уже разработан препарат Ivacaftor, не встречалась в белорусской популяции. Не идентифицированными остались 12,74% мутаций (рис. 3).

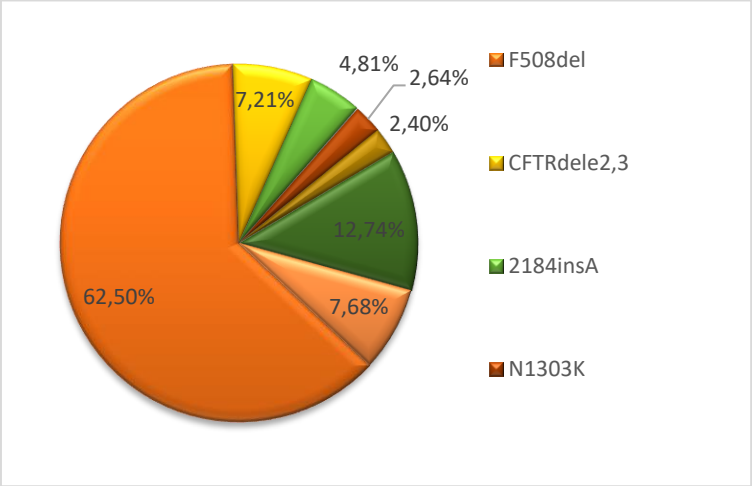

Рис. 3 – Спектр различных мутаций гена MBTP в РБ (ретроспективное исследование)

Проспективное углубленное исследование видов и классов мутаций гена MBTP в белорусской популяции.

Анализ позволил идентифицировать мутации, которые ранее никогда не определялись в Республике Беларусь (2143delT, L1335P, 3849+10kb) и выявить все мутации у каждого пациента. У двух пациентов мутаций не было обнаружено, таким образом, диагноз муковисциоза не был подтвержден (рис. 3).

УДК 61:615.1(043.2)
ББК 5

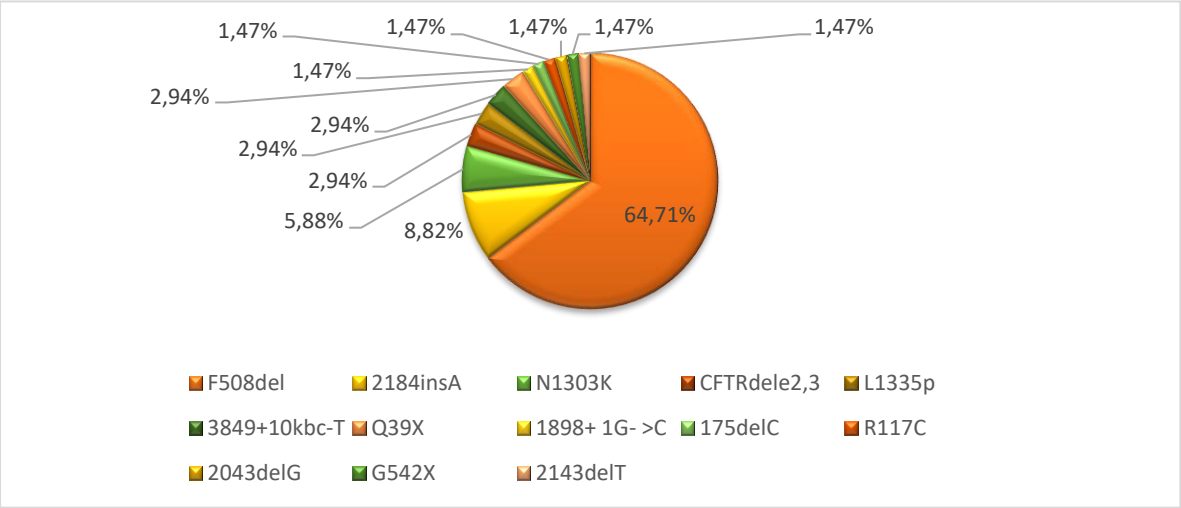

Рис. 3 - Спектр различных мутаций гена MBTP в белорусской популяции по данным углубленного проспективного исследования

Доля F508del при углубленном исследовании не изменилась (62,50% и 64,71% случаев), но выявлена тенденция к повышению доли пациентов, являющихся гомозиготными по F508del (с 35,58% до 47,06%), хотя статистически изменения не были достоверными (χ^2=1,194; p = 0,274). Часто встречающимися были шесть мутаций: 2184insA, N1303K, CFTRdele2,3(21kb), L1335p и 3849+10kbc-T, Q39X, которые в сумме составили 26,46%. Состав наиболее распространенных мутаций при углубленном анализе изменился мало: в их число при углубленном исследовании вместо G542X (2,40%) вошла мутация L1335p (2,94%), а вместо W1282R (0,96%) – мутация Q39X (2,94%).

Выводы.

1. Количество взрослых пациентов с МВ с 2004 года выросло почти в 3,5 раза, а медиана возраста – на 29%, что свидетельствует об улучшении диагностики и лечения МВ.

2. В белорусской популяции преобладают «тяжелые» мутации гена MBTP (95,5%) с доминированием F508del (64,71%), гомозиготы встречаются в 47,6% случаев.

3. Углубленный генетический анализ позволил идентифицировать мутации, которые ранее никогда не определялись в Республике Беларусь (например, 2143delT, L1335P, 3849+10kb), и отвергнуть диагноз муковисцидоза у двух пациентов, которые находились на стадии первичной диагностики.

Литература

1. Войтко, Т. А. Муковисцидоз: диагностика и лечение сегодня / Т. А. Войтко, Т.Н. Войтович, Н.П. Митьковская // Актуальные вопросы внутренних болезней. Материалы международной научно-практической конференции. - Минск, 1 ноября 2013. - С.135-144.

2. Капранов, Н. И. Современная диагностика и лечение муковисцидоза / Н.И. Капранов, Е. И. Кондратьева, В. Д. Шерман // Медицинский совет – 2014 – №1 – С. 44-49.

3. Мановицкая, Н. В. Эпидемиология муковисцидоза в Республике Беларусь / Н. В. Мановицкая, Г. Л. Бородина // Медицинский журнал – 2014. – № 2. – С. 26–31

УДК 61:615.1(043.2)
ББК 5

4. Орлов, А. В. Муковисцидоз (клиническая картина, диагностика, лечение, реабилитация, диспансеризация): учебное пособие для врачей / А. В. Орлов, О. И. Симонова, Е. А. Рославцева, Д. И. Шадрин: 2 издание. – Санкт-Петербург, 2014. – 160 с.

5. Халафян, А. А. / Statistica 6. Математическая статистика с элементами теории вероятностей: учебник // А. А. Халафян. – М.: Изд-во Бином, 2010. – 496 с.

6. Dodge, J.A. Cystic fibrosis mortality and survival in the United Kingdom, 1947 to 2003 / J.A. Dodge, P.A. Lewis, M.N. Stanton // European Respiratory Journal. - 2007. – №29 – P. 522-526.

7. Gomez-Pastrana, D. Real-world effectiveness of ivacaftor in children with cystic fibrosis and the G551D mutation // Gomez-Pastrana D., Nwokoro C., McLean M., Brown S., Christiansen N., Pao C. S. // Anales de Pediatria (Barc) – 2018. – № 3 – P. 135-190.

8. Mitsuhiko, Odera. Molecular dynamics simulation study on the structural instability of the most common cystic fibrosis-associated mutant ΔF508-CFTR / Mitsuhiko Odera, Tadaomi Furuta, Yoshiro Sohma, and Minoru Sakurai // Biophys Physicobiol – 2018. – № 15 – P. 33-44.

Репозиторий БГМУ