

© Коллектив авторов, 2020

УДК 616-036.24

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15044>

ISSN – 2073-8137

## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ CFTR

А. В. Горяинова<sup>1</sup>, С. А. Красовский<sup>2</sup>, С. Ю. Семькин<sup>1</sup>, Донников А. Е.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова, Москва, Российская Федерация

## PHENOTYPIC MANIFESTATIONS OF FOUR NEWLY IDENTIFIED MUTATIONS OF THE CFTR GENE

Goryainova A. V.<sup>1</sup>, Krasovsky S. A.<sup>2</sup>, Semykin S. Yu.<sup>1</sup>, Donnikov A. E.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Russian National Research Medical University named after N. I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Scientific Research Institute of Pulmonology, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Scientific Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov, Moscow, Russian Federation

Представлена клиническая характеристика и описание фенотипа детей с муковисцидозом, а также новые генетические варианты в гене CFTR, выявленные в результате проведения NGS секвенирования.

*Ключевые слова:* муковисцидоз, CFTR-мутации, секвенирование гена, таргетная терапия

The paper presents the clinical characteristics and description of phenotype of children with cystic fibrosis, as well as new genetic variants in the CFTR gene, identified as a result of NGS sequencing.

*Keywords:* cystic fibrosis, CFTR mutations, gene sequencing, targeted therapy

**Для цитирования:** Горяинова А. В., Красовский С. А., Семькин С. Ю., Донников А. Е. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(2):182-185. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15044>

**For citation:** Goryainova A. V., Krasovsky S. A., Semykin S. Yu., Donnikov A. E. PHENOTYPIC MANIFESTATIONS OF FOUR NEWLY IDENTIFIED MUTATIONS OF THE CFTR GENE. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(2):182-185. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15044> (In Russ.)

ИМТ – индекс массы тела  
КТ – компьютерная томография  
МВ – муковисцидоз  
ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха в первую секунду  
ПЖ – поджелудочная железа  
ПСВ – пиковая скорость выдоха

СДИО – синдром дистальной интестинальной обструкции  
ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких  
CF – cystic fibrosis (муковисцидоз)  
CFTR – Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (регулятор проводимости белка)

**В** настоящее время муковисцидоз (МВ) является одним из наиболее изученных моногенных заболеваний с встречаемостью в РФ 1:8788 новорожденных, в Америке и странах ЕС 1:2500–3000 [1, 2]. Генетический полиморфизм представлен более чем 2000 вариантов нуклеотидных последовательностей в гене CFTR. Из них 352 варианта являются патогенными, то есть вызывают развитие МВ [3].

С 90-х годов XX века произведено условное разделение CFTR мутаций на VI классов, исходя из степени нарушения функции хлорного канала. Мутации I–III классов считаются «тяжелыми» (в основном это нонсенс-мутации, мутации со сдвигом рамки считывания, крупные перестройки гена, некоторые мутации сплайсинга и миссенс-мутации), детерминируют развитие выраженной экзокринной недостаточности поджелудочной железы (ПЖ). При мутациях

IV–VI классов (в основном миссенс-мутации и нарушение механизма сплайсинга) отмечается «мягкий» фенотип заболевания в отношении сохранности функции ПЖ [4, 5].

Важно отметить, что в гене *CFTR* уже обнаружено немалое количество мутаций с низкой частотой встречаемости, в отношении которых затруднительна оценка связи «генотип – фенотип». Только часть известных мутантных аллелей ассоциирована с конкретной клинической картиной. Отдельные мутации могут характеризоваться полиморфизмом клинических проявлений. Самая главная «загадка» такого, казалось бы, изученного заболевания, как муковисцидоз, состоит в том, что генотип не позволяет однозначно определить тяжесть течения и прогноз болезни у каждого конкретного больного. Между тем мы живем в эру открытия и внедрения таргетной терапии – препаратов, восстанавливающих функцию *CFTR*-протеина (корректоры, потенциаторы, комбинированные препараты), позволяющих вызывать обратимое развитие фиброза легких, поджелудочной железы, нормализовать показатели вентиляционной функции легких. По данным регистра больных муковисцидозом в США за 2018 год, процент пациентов, получающих Ивакафтор (Калидеко), достигает 66,4 % (от 30 775 больных в США 66,4 % составляет 20 434 человек), Тезакафтор/Ивакафтор (Симдеко) 44,8 % (13 787). Притом что базисную терапию в виде ДНазы получают 91,9 %, ингаляционный тобрамицин – 70,2 %, гипертонический раствор – 73,4 % [6]. В Российской Федерации применение таргетной терапии носит единичный спорадический характер, с учетом отсутствия официально зарегистрированных препаратов на территории РФ, высокой стоимости данных лекарственных средств и недостаточной доступности генетической диагностики.

Таким образом, является актуальным проведение молекулярно-генетической диагностики, включающей поиск наиболее частых *CFTR*-мутаций и минорных вариантов гена с помощью метода секвенирования. Изучение фенотипа заболевания, в корреляции с новыми вариантами гена *CFTR*, представляет теоретический и практический интерес не только для формирования определенного прогноза, но и для подбора вариантов лечения, дальнейшего внедрения и разработки таргетной терапии МВ.

Представлены результаты выявления четырех ранее не описанных мутаций *CFTR* I–II классов методом высокопроизводительного секвенирования, проведенного у детей с МВ, наблюдающихся в клинике Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова, и сопоставления фенотипических проявлений заболевания с генотипом.

**Материал и методы.** Проведено ретроспективное исследование образцов крови 4 пациентов, которые вошли в группу 191 ребенка с муковисцидозом, подвергшихся ДНК-диагностике. Пациенты проходили лечение в Российской детской клинической больнице РНИМУ им. Н. И. Пирогова в период с 2014 г. по начало 2017 г. Исходно пациенты не имели подтвержденного генетического диагноза. Забор биоматериала (периферическая кровь) проводили на базе РДКБ. Геномную ДНК пациентов выделяли из образцов цельной крови, архивированной в Биобанке Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии

им. В. И. Кулакова, с помощью комплекта реагентов «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ДНК-Технология, Россия). Для определения наиболее распространенных мутаций в гене *CFTR* использовали комплекты реагентов «Генетика наследственных заболеваний. Муковисцидоз Скрин» и «Генетика наследственных заболеваний. Муковисцидоз – редкие мутации» (ДНК-Технология, Россия). Комплекты реагентов разработаны для определения 8 (F508del, *CFTR*dele2,3, 2143delT, 1677delTA, N1303K, 3849+10kbC>T, E92K, W1282X) и 16 (2184insA, G542X, S1196G, R334W, 394delTT, 3944delGT, 3821delT, 2789+5G>A, 621+1G>T, 2183AA>G, L138ins, R117H, 604insA, 3667insTCAA, R553X, K598ins) вариантов мутаций в гене *CFTR*. Поиск редких и новых вариантов *CFTR* проводили методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Ion Torrent TM (Thermo Fisher Scientific, США). Целевые участки включали в себя кодирующие области (27 экзонов гена *CFTR*), интрон-экзонные границы и область промотера гена. В случаях, для которых патогенные мутации не были определены ПЦР-методом, было проведено исследование гена *CFTR* методом высокопроизводительного секвенирования.

**Результаты.** В результате секвенирования у пациентов были выявлены четыре ранее не описанные мутации гена *CFTR*: с.4093delA/p.Lys1365Argfsic.4078delG/p.Val1360Phefs (мутации сдвига рамки считывания), с.1132C>T/p.Gln378Teric.2455G>T/p.Glu819Ter (нонсенс-мутации) патогенного значения. Новые варианты выявлены в гетерозиготном состоянии в сочетании с одной из частых мутаций гена. Данные варианты *CFTR* зарегистрированы нами в базе данных платформы LOVD.

Итак, для проведения ассоциации мутаций, выявленных *de novo* с клиническими проявлениями, приводятся фенотипические особенности 4 детей с идентифицированным в ходе исследования генотипом.

Ребенок У. 8 лет, генетический диагноз – *CFTR*F508del/c.1132C>T. Муковисцидоз, смешанная форма. Хронический полипозный риносинусит, непрерывно-рецидивирующее течение. Белково-энергетическая недостаточность 3 степени.

Диагноз установлен по положительным результатам неонатального скрининга в 2010 году. Хлориды пота – 110 ммоль/л, фекальная эластаза <15 мкг/г. С первого года жизни получает базисную терапию МВ – ДНазу, заместительную терапию панкреатическими энзимами из расчета 2000 ЕД/кг/прием пищи (1000 ЕД на 1 г жира). Начиная с возраста 12 месяцев – частые бронхиты и несколько эпизодов пневмоний. С возраста 2 лет – хронический высев *Pseudomonas aeruginosa* 10\*8 КОЕ/мл, не поддающийся эрадикации Колистиметатом натрия и Тобрамицином.

Начиная с возраста раннего детства отмечается задержка в физическом развитии, выраженный нутритивный дефицит. В 8 лет – ИМТ – 11,6 кг/м<sup>2</sup> (<3-го перцентиля), масса тела – 15,7 кг, рост – 116 см (масса ниже 3-го перцентиля, рост – 3-й перцентиль). Не удается улучшить состояние питания путем гиперкалорических энтеральных смесей из расчета 150 ккал/100 мл. От агрессивных методов нутритивной поддержки ребенок и мать категорически отказываются на протяжении нескольких лет. Страдает хроническим полипозным риносинуситом, с рецидивирующим течением. Проведены 2 полипектомии с временным эффектом.

На КТ органов грудной клетки отмечается диффузный интерстициальный пневмофиброз, множественные варикозные и кистозные бронхоэктазы. По результатам спирометрии – выраженные расстройтва вентиляционной функции легких – ОФВ<sub>1</sub> – 54 % от должного (0,61 л), ФЖЕЛ – 79 % (1,03л), ПСВ – 47 %.

В возрасте 8 лет получает 35 капсул Креон 10 000 ЕД/сутки (4.000 ЕД/кг/прием пищи), на фоне чего отмечается компенсация панкреатического статуса.

У ребенка имеет место тяжелое течение МВ, с необходимостью проведения 4–5 курсов 14–21-дневной в/в антибактериальной терапии; невозможностью добиться эрадикации псевдомонадной флоры ингаляционными полимиксином и тобрамицином; прогрессирующим снижением показателей спирометрии; выраженным дефицитом нутритивного статуса; формированием хронической дыхательной недостаточности I–II (SpO<sub>2</sub> при обострении <89 % в покое).

Ребенок Е. 9 лет, генетический диагноз – *delF508/c.4093delA*. Муковисцидоз, смешанная форма. Хроническая панкреатическая недостаточность. Муковисцидоз-ассоциированный цирроз печени с синдромом внутрипеченочной портальной гипертензии. Синдром дистальной интестинальной обструкции.

Диагноз установлен на 1-м году жизни на основании характерной клинической картины в виде синдрома мальабсорбции – стеатореи, полифекалии. Хлориды пота (по Гибсону – Кукку) – 70 ммоль/л. Фекальная эластаза <100 мкг/г. С 4 месяцев получает базисную терапию МВ. Молекулярно-генетическая диагностика в виде поиска 24 наиболее частых мутаций в гене *CFTR* проведена в возрасте 2 лет – выявлена *del F508* в гетерозиготном состоянии. С 3 лет – хронический высев *MSSA*, с 7 лет – *Stenotrophomonas maltophilia*.

С 5 лет – прогрессирующее МВ-ассоциированное поражение печени от фиброза F2 по METAVIR до формирования цирроза печени с синдромом внутрипеченочной портальной гипертензии (F4 по METAVIR, класс А по Чайлд – Пью). Отмечается умеренная цитолитическая и минимальная холестатическая активность – АЛТ – 146 МЕ/л, АСТ – 176 МЕ/л, Г-ГТП – 42 Е/л, ЩФ – 419 МЕ/л. МНО – 1,070, протромбин по Квику – 91 %, показатели билирубина, альбумина – в пределах нормы. Получает начиная с 12 месяцев жизни урсодезоксихолиевую кислоту 30 мг/кг/сутки, жирорастворимые витамины в рекомендованных для больных МВ дозировках.

Также у ребенка имеет место рецидивирующий синдром дистальной интестинальной обструкции на протяжении всей жизни (боли в животе, запоры, пальпируемый дистальный отдел ileum), в связи с чем получает ацетилцистеин 20 мг/кг/сутки *per os*, полиэтиленгликоли и лактулозу при задержке стула >48 часов.

Со стороны бронхолегочной системы – обострения хронического бронхита 1–2 раза в год. В 2018 году – эпизод левосторонней сегментарной пневмонии с формированием фиброателектаза язычковых сегментов. Получает по 2 курса 14-дневной в/в антибактериальной терапии в год.

Показатели спирометрии – ОФВ<sub>1</sub> – 97 % от должного, ФЖЕЛ – 95 %. На КТ органов грудной клетки отмечаются фокальные очаги пневмофиброза, множественные тракционные бронхоэктазы обоих легких.

В возрасте 9 лет получает 20 капсул Креон 10 000 ЕД/сутки (2000 ЕД/кг/прием пищи). ИМТ – 15,5 кг/м<sup>2</sup> (между 25 и 50 перцентилями). Рост – 127 см, масса – 25 кг (массо-ростовые показатели между 25-м и 10-м перцентилями).

Ребенок В. 17 лет, генетический диагноз – *CFTR-dele 2,3/c.4078delG*. Муковисцидоз, смешанная форма. Хронический полипозный риносинусит. Фиброз печени, муковисцидоз-ассоциированный.

Заболевание заподозрено в возрасте 9 лет на основании рецидивирующих бронхитов с отхождением скудной гнойной мокроты (2 раза в год) без признаков дыхательной недостаточности, синдрома мальабсорбции – периодически видимой стеатореи на фоне приема жирной пищи. Хлориды пота – 60 ммоль/л, фекальная эластаза <100 мкг/г. В посевах мокроты – рост *MSSA*, однократный высев *Pseudomonas aeruginosa* плоский штамм в 2017 году (проведена эрадикация ингаляционным тобрамицином и ципрофлоксацином внутрь). С момента установления диагноза получает ДНазу, заместительную энзимотерапию. В возрасте 17 лет рост подростка составляет 166 см (10-й перцентиль), масса – 46 кг (<3-го перцентиля), ИМТ – 17 кг/м<sup>2</sup> (ниже 3-го перцентиля). Показатели спирометрии: ОФВ<sub>1</sub> – 57 % от должного, ФЖЕЛ – 64 %, ПСВ – 63 %. На КТ органов грудной клетки отмечается рентгенологическая картина интерстициального пневмофиброза, множественных цилиндрических бронхоэктазов. Панкреатический статус пациента – подросток получает 25 капсул Креон 10 000 ЕД/сутки (1000–1500 ЕД/кг/прием пищи).

Частота обострений хронического гнойного бронхита 1–2 раза в год с необходимостью 14-дневного в/в курса противомикробной терапии.

Формирование муковисцидоз-ассоциированного фиброза печени, диагностируемого на основании ультразвуковой диагностики, непрямой эластометрии печени, отмечается с периода пубертата (13-летнего возраста).

Ребенок Н. 15 лет, генетический диагноз – *CFTR del F508/c.2455G>T*. Муковисцидоз, смешанная форма. Хроническая панкреатическая недостаточность. Двусторонний хронический полипозно-гнойный гайморит. Фиброз печени, ассоциированный с муковисцидозом.

Клиническая манифестация заболевания с возраста 2 лет: множественные эпизоды бронхитов, пневмония; периодическая стеаторея без видимых отставаний ребенка в физическом развитии, без нутритивного дефицита. По месту жительства проведен потовый тест по Гибсону – Кукку – 90 ммоль/л (положительный результат). Девочка направлена в педиатрическое отделение РДКБ для подтверждения диагноза. Содержание фекальной эластазы-1 в стуле <50 мкг/г, начата заместительная терапия панкреатическими ферментами. В настоящее время, в возрасте 15 лет, пациентка получает 40 капсул 10 000 Креона/сутки, ИМТ составляет 18 кг/м<sup>2</sup> (25-й перцентиль, рост 165 см – между 50-м и 75-м перцентилями, вес – 49 кг – между 50-м и 25-м перцентилями).

С 10-летнего возраста отмечается хроническая *Burkholderia cepacia complex*-ассоциированная инфекция респираторного тракта. Число обострений хронического гнойного бронхита не превышает 2 раза в год, проходит 14-дневные курсы комбинированной противомикробной терапии в условиях стационара. В период ремиссии получает ингаляционную

терапию Тиамфеникол глицинат ацетилцистеинатом, Меропенемом, перорально Ко-тримоксазол, Миноциклин.

Страдает хроническим полипозно-гнойным риносинуситом; полипэктомии не проводилось. Получает топические интраназальные ГКС курсами.

К 15-летнему возрасту ребенок удовлетворительно переносит физические нагрузки, SaO<sub>2</sub> в покое сохраняется в пределах 97–98 %, при обострениях бронхолегочной патологии – 93–94 %.

Показатели спирометрии – ФЖЕЛ 77 % от должно, ОФВ<sub>1</sub> – 56 % от должно (выраженные нарушения бронхиальной проходимости на фоне легкого снижения ФЖЕЛ).

На КТ органов грудной клетки – фокальный негрубый пневмофиброз, цилиндрические и единичные варикозные бронхоэктазы обоих легких.

С 13 лет диагностирован МВ-ассоциированный фиброз печени, F2 по классификации METAVIR.

В 2015 году проведена ДНК-диагностика, выявлена *F508del* в гетерозиготном состоянии и по результатам секвенирования определена не описанная мутация *c.2455G>T/p.Glu819Ter (NOVEL)*, относящаяся к I–II классам мутаций гена *CFTR*.

В таблице продемонстрирована вариабельность клинической картины муковисцидоза, развивающаяся при разных генетических вариантах гена *CFTR*.

**Заключение.** Таким образом, представлено клиническое многообразие и гетерогенность такого заболевания, как муковисцидоз. Развитие «тяжелого» генотипа во всех четырех случаях определяется структурой мутаций (нонсенс-мутации и мутации сдвига рамкисчитывания относятся к мутациям I класса) и подтверждается клинической картиной дебюта заболевания и объективными данными, ука-

### Литература/References

1. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2017 год. Под ред. А. Ю. Воронковой, Е. Л. Амелиной, Н. Ю. Каширской [и др.]. М.: «МЕДПРАКТИКА-М», 2019. [The register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. 2017 year. Ed. by Voronkova A. Yu., Amelina E. L., Kashirskaya N. Yu. [et al.]. M.: MEDPRAKTIKA-M, 2019. (In Russ.)].
2. Zolin A., Orenti A., Naehrlich L., van Rens J. [et al.]. ECF-SPR European Cystic Fibrosis Society Patient Registry Annual data report (year 2017) version 1.2019. Available at: [www.ecfs.eu/ecfs-patient-registry](http://www.ecfs.eu/ecfs-patient-registry). Accessed January 19, 2020.
3. Farrell P. M., White T. B., Ren C. L., Hempstead S. E., Accurso F. [et al.]. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J. Pediatr.* 2017;181:4-15. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.09.064>

### Сведения об авторах:

Горяинова Анастасия Васильевна, кандидат медицинских наук, врач-педиатр, гастроэнтеролог; тел.: 89263062836; e-mail: [dr.goryainova@gmail.com](mailto:dr.goryainova@gmail.com); ORCID: 0000-0001-9636-3807

Красовский Станислав Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории муковисцидоза; тел.: 4954657415; e-mail: [sa\\_krasovsky@mail.ru](mailto:sa_krasovsky@mail.ru)

Семыкин Сергей Юрьевич, кандидат медицинских наук, заведующий педиатрическим отделением; тел.: 89037400206; e-mail: [dr.semykin@mail.ru](mailto:dr.semykin@mail.ru)

Донников Андрей Евгеньевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических методов; тел.: 89036845247; e-mail: [donnikov@dna-technology.ru](mailto:donnikov@dna-technology.ru)

Таблица

### Клинический полиморфизм муковисцидоза у детей с новыми патогенными вариантами гена *CFTR*

Новый вариант гена	Фенотипические проявления муковисцидоза			
	СДИО*	Фиброз/цирроз печени	Полипозный риносинусит	Экзокринная недостаточность ПЖ
<i>c.2455G&gt;T</i>	-	+ (фиброз)	+	++
<i>c.4078delG</i>	-	+ (фиброз)	+	++
<i>c.4093delA</i>	+	++ (цирроз)	-	++
<i>c.1132C&gt;T</i>	-	-	++	++

\*СДИО – синдром дистальной интестинальной обструкции.

зывающими на раннее развитие панкреатической недостаточности. При этом нами описана очевидная вариабельность поражения других органов и систем (синдром дистальной интестинальной обструкции, фиброз и цирроз печени, полипозный риносинусит, выраженность белково-энергетической недостаточности), что в определенной мере зависит от генотипа пациента. Дальнейшее описание и накопление данных по фенотипическим проявлениям в ассоциации с генотипом больных МВ помогут в определении прогноза и дальнейшей разработке новых методов лечения, в частности таргетной терапии.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

4. Bombieri C., Claustres M., De Boeck K., Derichs N., Dodge J. [et al.]. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J. Cystic Fibros.* 2011;10(Suppl2):86-102. [https://doi.org/10.1016/S1569-1993\(11\)60014-3](https://doi.org/10.1016/S1569-1993(11)60014-3)
5. Kieseewetter S., Macek M. Jr., Davis C., Curristin S. M., Chu C. S. [et al.]. A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nat. Genet.* 1993;5(3):274-327. <https://doi.org/10.1038/ng1193-274>
6. Marshall B., Faro A., Elbert A., Fink A., Sewall A. [et al.]. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry Annual Data Report 2018. Available at: <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2018-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf>. Accessed August 3, 2019.