

UOT 616

L.S.Hüseynova
Azərbaycan Tibb Universiteti
royahuseynova2006@gmail.com

MUKOVİSSİDOZ XƏSTƏLİYİNİN GENETİK SKRİNİNQİ

Açar sözlər: *mukovissidoz, skrining, mutasiya, gen, prenatal diaqnostika*

Azərbaycan Respublikasında ilk dəfə olaraq yenidoğulmuşlar və xəstə uşaqlar arasında mukovissidoz xəstəliyinin genetik skriningi aparılmışdır. Mukovissidozu idarə edən CFTR genində delF508 mutasiyasına homoziqot, heteroziqot və həm də kompauant vəziyyəti aşkar edilmişdir.

Məqalədə yenidoğulmuşlar və xəstə uşaqlar arasında mukovissidozun profilaktikası yolları və eyni zamanda genetik riskli ailələrdə dölün prenatal diaqnostikası verilmişdir.

Л.С.Гусейнова

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ МУКОВИСЦИДОЗА

Ключевые слова: *муковисцидоз, скрининг, мутация, ген, пренатальная диагностика*

Впервые у населения Азербайджанской Республики проведен генетический скрининг муковисцидоза среди новорожденных и больных детей. Выявлена мутация гена муковисцидоза delF508 гена CFTR в гомозиготном, гетерозиготном, в компаундном состояниях.

В статье описываются пути профилактики муковисцидоза среди новорожденных и больных детей, а также пренатальную диагностику плода в семьях с генетическим риском.

L.S.Huseynova

GENETIC SCREENING FOR CYSTIC FIBROSIS

Keywords: *cystic fibrosis, screening, mutation, gene, prenatal diagnosis*

For the first time, the population of the Azerbaijan Republic underwent genetic screening for cystic fibrosis among newborns and affected children. A mutation of the delF508 of the CFTR gene for cystic fibrosis in the homozygous, heterozygous and compound states was revealed.

The ways of preventing cystic fibrosis among newborns and affected kids as well as prenatal diagnosis of the fetus in families with genetic risk are described in this article.

Giriş

Mukovissidoz avropeoid insan populyasiyaları arasında ən geniş təsadüf edilən monogen təbiətli autosom-resektiv irsiyyət tipli genetik xəstəlikdir. Mukovissidoz irsi xəstəliyinin təsadüf olunma tezliyi 1:2500-5000 yenidoğulmuşdur. Heteroziqot daşıyıcılığının tezliyi 1:25-30 bərabərdir (2). 1989-cu ildə molekulyar-genetik metodların köməkliyi ilə mukovissidoz irsi xəstəliyinin geni aşkar edilərək CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) adlandırılmışdır. CFTR geninin sintez etdiyi zülal epitelial hüceyrələrin apikal membranında yerləşən xlor kanallarının fəaliyyətini rəqlə edir (10; 12).

Xəstəlik ağciyərləri və mədəaltı vəzinin funksiyasını zədələyir. Diaqnostik əlamət olaraq xəstə uşağın tərində xloridlərin və natriumun miqdarlarının artmasıdır. Mukovissidoz xəstələrinin 98%-də ağciyər və ya pankreatik simptomatika və tərdə xloridlərin miqdarının artması müşahidə edilir. Yalnız xəstələrin 2%-də tipik klinika ilə yanaşı, tərdə xloridlərin miqdarları normal qatılığa malikdirlər (7; 8; 9). Belə hallarda xəstəliyin diaqnostikası üçün molekulyar-genetik metodlardan istifadə edilərək CFTR genində mutasiya təyin edilməlidir.

CFTR geni 7 saylı xrosomun uzun çiyininin mərkəzində (7q31) ölçüsü 190 kb olaraq 27 ekzondan ibarətdir. CFTR geni ölçüsü 170 kilodalton olan böyük transmembran zülalın sintezində iştirak edir. Mukovissidoz xəstəliyində CFTR genində təsadüf edilən mutasiyaların 70%-ni zülalın 580-ci vəziyyətində fenilalanin aminturşusunun delesiyaı durur. F508 mutasiyalı zülal normal struktura malik olmadığından endoplazmatik retikulumdan çıxıbilmir, davamlılığında və aktivliyində dəyişikliklər müşahidə edilir. CFTR geni üçün mutasiyaların bütün tipləri aşkar edilmişdir. Aşkar edilmiş mutasiyaların təxminən yarısı missens mutasiyaların payına düşür (3; 6.).

CFTR geninin əsas mutasiyaları: del121kb, delf508, del1501507, 1677delTA, 2143delT, 2184insA, 394delTT, 3821delT, G542X, W1282X, N1303K, L138ins, R334W, 3849+10kb C→T mukovissidoza səbəb olan genetik defektlərin 75%-ni təşkil edir. Mutasiyalardan ən geniş təsadüf olunanı delf508-dir. Rusiyada delf508 mutasiyasının təsadüf olunma tezliyi 55-ə bərabərdir. Ümumiyyətlə, CFTR geninin 700-dən artıq mutasiyası identifikasiya edilmişdir ki, bunların da əksəriyyəti nadir təsadüf edilir. Mukovissidozun irsiyyət tipi autosom-resektivdir (1; 4; 11).

CFTR geninin bütün mutasiyaları beş sinfə bölünür:

1.Nonsens mutasiyalar (G542X, W1282X, R553X, 2143delT, 1677delTA);

2.Missens mutasiyalar (del F508, del I 507, N1303 K, S541 I, S549 R);

3. Apikal membrana çatan, lakin mutasiyanı aktivləşdirilə bilməyən CFTR tənzimlənməsində narahatlığa səbəb – missens mutasiyalar (G551 D, G1224 E, S1255 P);

4. Cl⁻ ionlarının keçiriciliyinin çətinləşməsinə gətirib çıxaran mutasiyalar (R117 H, R334 W, R347 P);

5. CFTR sintezinin zəifləməsinə səbəb olan mutasiyalar (A455 E, 3849+10kb C-T, IVS8(5T0)).

1-3-cü sinif mutasiyaların təzahür formaları "ağır", 4-5-ci siniflərin mutasiyalarının təzahür formaları isə "yüngül" olur. CFTR geninin mutasiyalarını klinik təzahürlərinə görə dörd qrup üzrə qruplaşdırmaq olar:

- 1) Xəstəliyin inkişafına gətirib çıxarır;
- 2) CFTR ilə əlaqədar xəstəliklərin inkişafına gətirib çıxarır;
- 3) Klinik təzahürü olmur;
- 4) Müəyyən olunmamış bir klinik əhəmiyyətə malikdir.

Beləliklə, müvafiq klinik təzahürləri olan xəstələrdə mukovissidoz diaqnozunu müəyyənləşdirmək üçün mutasiyaların analizi aparılmalıdır (11).

Azərbaycan Respublikasının əhalisində mukovissidoz xəstəliyinin genetik diaqnostikası aparılmamış, CFTR geninin mutasiyaları öyrənilməmişdir.

Beləliklə, Azərbaycan Respublikasının əhalisində mukovissidoz irsi xəstəliyinin CFTR genlərinin genetikasının öyrənilməsini qarşımıza məqsəd qoymuşuq.

Material və metodika

Müayinə Səhiyyə Nazirliyinin Elmi-Tədqiqat Pediatriya İnstitutuna müraciət etmiş 138 xəstə uşaq və Bakı şəhərinin doğum evlərindən 548 yenidoğulmuş arasında aparılmışdır. Molekulyar diaqnostika məqsədilə material olaraq antikoagulyantlı venoz qandan istifadə edilmişdir.

Tədqiqat məqsədilə molekulyar genetik və biokimyəvi metodlardan istifadə edilmişdir.

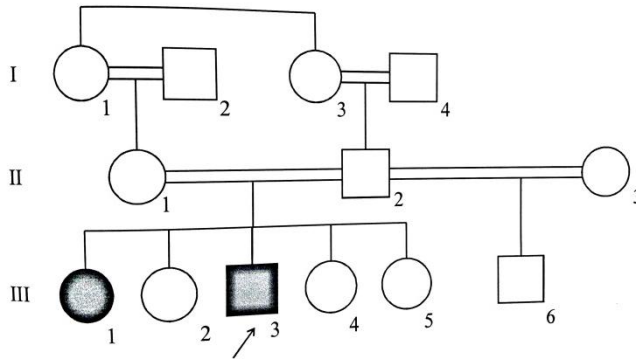
CFTR geninin mutasiyaları ROTOR-GENE aparatında aparılmışdır. Bu məqsədlə tərkibində CFTR geninin altı mutasiyasını saxlayan genetik paneldən istifadə edilmişdir (delF508, W1282X, N1303K, delT2143, 3849+10kb C→T, del2,3-21kb).

CFTR geninin polimorfizmi polimeraza zənsir reaksiyasına (PZR) əsaslanan molekulyar genetik metodların kompleksindən istifadə etməklə həyata keçirilmişdir. Venoz qandan genom DNT-si Almaniya istehsalı olan QIAamp genomic DNA və RNA reaktiv qarışığından istifadə edilmişdir (QIAGEN firması). Ayrılmış genom DNT-nin və amplifikasiya edilmiş DNT fraqmentlərinin intaktlığı 1,7%-li aqaroza gelində ABŞ istehsalı olan PowerPacBasicGelDoc^{IM}EZ elektroforez aparatında elektroforez yolu ilə tədqiq edilmişdir. DNT fraqmentlərinin təmizlənməsi xüsusi maqnitlərin üzərində

aparılmışdır (Agencourt AMPure XP PCR purification və SPRIPlate 96 Super Magnet Plate). Təmizlənmiş DNT fraqmentlərinin ikinci dəfə amplifikasiyası aşağıda qeyd olunmuş rejimdə aparılmışdır: 95°S-2 dəqiqə, (95°S-30^I, 55°S-30^I, 77°S-2 dəqiqə 30 sikl və 72°S 10 dəqiqə, fasilə 4°S-də. Sonra əldə olunmuş amplifikat “GENOMELabGeXP™ Sequencing” aparatına keçirilib nukleotid ardıcılığı öyrənilmişdir (5).

Nəticə və müzakirə

138 xəstə uşağın CFTR geninin mutasiyalarının identifikasiyası ROTOR-GENE aparatında tərkibində CFTR geninin altı mutasiyasını (delF508, W1282X, N1303K, delT2143, 3849+10kb C→T, del2,3 (21kb)) saxlayan genetik paneldə aparılmış və dörd xəstədə delF508 mutasiyasının homoziqot forması identifikasiya edilmişdir. DelF508 mutasiyasında fenilalanin aminturşusunu kodlaşdıran tripletin (kodonunun) delesiyası olduğundan sintez olunmuş CFTR zülalının 508-ci vəziyyətində fenilalanin aminturşusunun delesiyası (çatmamazlığı) müşahidə olunur. Nəsil ağacının tərtibi və geneoloji analizi xəstə uşaqların valideynlərində ikinci dərəcəli qan qohumluğunun olması aşkar edilmişdir. A.T. və A.N. bacı və qardaşın nəsil ağacı şəkil 1-də verilmişdir.



Şəkil 1. Homoziqot delF508 mutasiyalı A.T. probandın nəsil ağacı

A.T. probandın nəsil ağacından görünür ki, III-3 – probandda və bacısında – III-1 CFTR geninin delF508 mutasiyasının homoziqot formasıdır. Sibsələrdə – III-2, III-4, III-5 və atanın (II-2) ikinci arvadından (II-1) olan oğlan sibs (III-6) sağlamdırlar. A.T. probandın valideynlərində ikinci dərəcəli qan qohumluğu var: nənələri (II-1 və II-2) bacıdırlar.

CFTR xəstəliyinin müayinə olunmuş 138 xəstə uşaqların arasında fenotipik tezliyi 2,89%, gen tezliyi 0,0145 olmuşdur. Qeyd edək ki, Rusiya Federasiyasının Moskva şəhərində hər il 10, Sankt-Peterburq şəhərində 3-4 uşaq CFTR diaqnozu ilə doğulur.

Mukovissidoz irsi xəstəliyinin irsiyyət tipi autosom-resessiv olduğundan xəstəlik (homoziqota) nəsil ağacında üfqi istiqamətdə paylanır, hər iki cinsi eyni dərəcədə zədələyir və xəstə uşağın hər iki valideyni sağlamdır (heteroziqot). Praktiki sağlam (heteroziqot) valideynlərdə hər növbəti hamiləlikdə xəstə uşağın doğulma riski 25%-ə bərabərdir.

Beləliklə, ilk dəfə olaraq Bakı şəhərinin doğum evlərində 548 yenidoğulmuş və 138 xəstə uşaq arasında mukovissidoz irsi mübadilə xəstəliyinin genetik skriningi aparılmış, mukovissidoz xəstəliyində CFTR geninin bir – delF508 mutasiyası aşkar edilmişdir. CFTR geninin fenotipik tezliyi 2,89%, gen tezliyi 0,0145 olmuşdur (vahid daxilində). Azərbaycan Respublikasında ilk dəfə olaraq yenidoğulmuşlar və xəstə uşaqlar arasında mukovissidoz xəstəliyinin genetik skriningi aparılmışdır. Mukovissidozu idarə edən CFTR genində delF508 mutasiyasına homoziqot, heteroziqot və həm də kompaunt vəziyyəti aşkar edilmişdir.

Azərbaycan Respublikasının əhalisində mukovissidoz irsi xəstəliyinin profilaktikası məqsədilə genetik riskli ailələrin tibbi-genetik konsultasiyası, hamiləlik dövründə xəstəliyin ana bətnində prenatal diaqnostikası və yenidoğulmuşların genetik skriningi nəzərdə tutulur.

Nəticə

1. Azərbaycan Respublikasında ilk dəfə olaraq mukovissidoz xəstəliyində CFTR geninin mutasiyaları identifikasiya edilmişdir.
2. CFTR geninin delF508 mutasiyası aşkar edilmişdir.
3. CFTR geninin fenotipik tezliyi 2,89%, gen tezliyi 0,0145 olmuşdur.
4. Mukovissidozu idarə edən CFTR genində delF508 mutasiyasına homoziqot, heteroziqot və həm də kompaunt vəziyyəti aşkar edilmişdir.

ƏDƏBİYYAT

1. https://meduniver.com/Medical/genetika/genetika_mukoviscidoza.html
2. <http://www.nvesti.ru/wp-content/uploads/2019/01/%D0%9D%D0%B0%D1%83%D1%87%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D0%B2%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B8-1-6-2019-1.pdf>.
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=219700>
4. Введение в молекулярную диагностику / Под редакцией академика РАН и РАМН М.А. Пальцева. Введение в молекулярную диагностику / Под редакцией академика РАН и РАМН М.А. Пальцева. «Изд. Медицина», 2011, 503 с. М.: Изд. Медицина, 2011, 503 с.
5. Геномика-медицине. Научное издание / Под ред. академика РАМН В.И.Иванова и академика РАН Л.Л.Киселева. М.: Академкнига, 2005, 392 с.

6. Борьба с наследственными болезнями / Доклад научной группы ВОЗ. Женева, ВОЗ, Доклад 865, 1997, с.33
7. Application information. Purification of GENOMELAB™GeXPSequencing Productions using SPRICleanSEQ^R MagneticBeards. CEQ 2000, CEQ 2000XL, CEQ 8000, CEQ 8800 &GeXP Instruments BECKMAN COULTER. Application Team Europe.
8. *Boucher R.C.* Status of gene therapy for cystic fibrosis lung disease. // *J Clin Invest.* 1999. v.103. p.441-446
9. *Crystal R.* Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Lessons Learned and Hurdles totuccess. // *Pediatric Pulmonology.* 1995. Suppl.12 p.67-68
10. *Crystal R.G., McElvaney N.G., Rosenfeld M.A. et al.* Administration of anadenovirus containing the human CFTR cDNA to the respiratory tract of individuals with cystic fibrosis // *Nature Genetics.* 1994. V. 8. p.42-51
11. *McKusick A.* Mendelian inheritance in man. Tenth edition, London, 2002, p. 2115.
12. *White G.A., O'Riordan C.R., Smith A.E.* Deffective intracellular transport and processing of CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis // *Cell.* 1990. v.63, p.827-834