

АЮПОВА ГУЗЕЛЬ РАМИЛЕВНА

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ, КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
МУКОВИСЦИДОЗА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН**

1.5.7. Генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва -2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель

доктор биологических наук, доцент

Хусаинова Рита Игоревна

Официальные оппоненты

Асанов Алий Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, профессор кафедры медицинской генетики института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Скрябин Николай Алексеевич, кандидат медицинских наук, руководитель лаборатории геномики орфанных болезней научно-исследовательского института медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, ул. Москворечье, 1

Защита диссертации состоится «26» марта 2025 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.005 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-0300005>

Автореферат разослан «21» февраля 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.005,
кандидат биологических наук, доцент

Гигани Ольга Олеговна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Муковисцидоз, кистозный фиброз (Cystic fibrosis, OMIM 219700, МКБ-10 E84, MB) - аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, характеризующееся выраженной генетической гетерогенностью, в связи с этим клинической вариабельностью, тяжелым течением и неблагоприятным прогнозом [Капранов Н.И. и др., 2004]. Заболевание встречается во всех странах мира, но существуют выраженные популяционные отличия его частоты с уменьшением градиента распространения с Севера на Юг и с Запада на Восток Евразии [Zvereff V.V., 2014, Капранов Н.И. и др., 2021]. Это частое наследственное заболевание среди европеоидов и редкое в популяциях азиатских и негроидных рас [Report of a Joint Meeting. The molecular Genetic Epidemiology of Cystic Fibrosis//WHO/HGN/CF/WG/04.02]. Частота MB в популяциях монголоидной расы составляет 1:100000 – 1:350000 новорожденных, в европеоидных достигает 1:2500 - 4500 [Elborn J.S., 2016, Красовский С.А., 2019]. В 2021 г. по данным программы «14 Высокозатратных нозологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации (МЗ РФ) в стране зарегистрировано 4230 пациентов с MB, наблюдается неравномерная распространенность заболевания, что связано с разнообразием этногенеза народов различных регионов страны.

Молекулярный патогенез заболевания обусловлен мутациями в гене *CFTR* – трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), приводят к нарушениям синтеза, структуры и функции белка и к различным функциональным нарушениям в работе хлорных каналов, в следствии увеличивается вязкость секретов и развивается экзокринопатии, нарушая работу всех органов и систем, в первую очередь органов дыхания, пищеварения, потовых желез, урогенитального тракта. В настоящее время выделяют семь функциональных классов мутаций в гене *CFTR*, развивающих различную по тяжести течения клиническую картину MB, однако процесс классификации мутаций все еще далек от завершения. В современных базах данных, например, международном проекте CFTR2 (<https://cfr2.org>) на 07.04.2023 представлено 719 патогенных генетических вариантов, The Human Gene Mutation Database (<https://my.qiagen.digitalinsights.com/bbp/view/hgmd/pro/all.php>) - около 2000, Clin Var - 2156.

Спектр и частота патогенных вариантов гена *CFTR* значительно разнятся в мире, в субъектах РФ, существуют мутации специфичные для отдельных этносов. Многообразие спектра и частот *CFTR* вариантов вносит объективные сложности для ДНК-диагностики MB и проведения генетического консультирования, поэтому необходимо изучение региональных клинико-генетических и эпидемиологических особенностей MB для разработки оптимальных алгоритмов диагностики и лечения заболевания.

Ранее течение заболевания было тяжелым с высокой инвалидизацией, лечение проводилось симптоматически. В последние годы современные достижения в области

изучения молекулярно-генетических аспектов МВ позволили совершить революцию в создании патогенетической терапии. Появились новые эффективные лекарственные препараты модуляторы *CFTR*, которые способствуют положительной динамике состояния здоровья пациентов и улучшению качества их жизни [Петрова Н.В., Зинченко, Р.А., 2020, Клинические рекомендации «Кистозный фиброз», 2021].

Несмотря на впечатляющие успехи в области молекулярно-генетических исследований МВ и разработку современных методов терапии, остаются нераскрытые вопросы о спектре и частотах патогенных изменений в гене *CFTR* в отдельных популяциях и регионах мира в целом и России в частности [Капранов Н.И. и др., 2014]. Необходимо изучить молекулярно-генетический ландшафт МВ в различных регионах РФ с учетом популяционных особенностей коренных народов, с оценкой генно-фенотипических корреляций, определением частот гетерозиготного носительства с учетом регион специфических мутаций у пациентов с МВ.

Степень разработанности темы. Анализ территориальных и популяционных различий спектра и частоты вариантов в гене *CFTR* у пациентов с МВ проводился в РФ и представлен Петровой Н.В. в 2009 г, Мельяновской Ю.Л. в 2023 г., также в 2009 г. создан национальный регистр [Красовский, С.А. и др., 2021].

Варианты *CFTR*, идентифицируются с помощью различных методов ДНК-диагностики, в сложных ситуациях у пациентов с атипичным течением и пограничными показателям хлоридов в поте, применяются методы оценки функциональной активности ионных каналов. В настоящий момент необходимо описание генно-фенотипических корреляций с учетом данных ДНК-исследований. Комплексный анализ клинико-генетических данных для вариантов характерных для РБ не проводился, дополнительно требуется оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий с персонализированным подходом для каждой семьи с МВ в регионе.

Цель работы. Поиск патогенных вариантов гена *CFTR*, приводящих к развитию МВ, определение клинической вариабельности и молекулярной гетерогенности заболевания в РБ для оптимизации диагностики и лечения МВ, разработки алгоритмов медико-генетического консультирования отягощенных семей.

Задачи исследования:

1. Оценка распространенности МВ в РБ с учетом этно-территориальной структуры региона, клинико-лабораторных характеристик заболевания с определением возрастных особенностей и тяжести течения.
2. Поиск патогенных вариантов в гене *CFTR* с применением современных методов ДНК-диагностики, в том числе NGS технологий, оценка спектра и частоты выявленных изменений.

3. Анализ клинико-генетических корреляций с тяжестью заболевания с учетом класса патогенности мутаций.
4. Определение гетерозиготного носительства выявленных мутаций в гене *CFTR* у членов отягощенных семей и в популяциях коренных народов Республики Башкортостан.
5. Разработка алгоритмов ДНК-диагностики МВ с учетом региональных особенностей молекулярно-генетической структуры заболевания в Республике Башкортостан, оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий.

Научная новизна исследования. Впервые проведен поиск и идентификация патогенных вариантов гена *CFTR*, приводящих к развитию МВ, идентифицировано 35 вариантов, имеющих патогенное/вероятно патогенное значение, в 96,12% отягощенных семей обнаружены обе мутации. Впервые сделана подтверждающая ДНК-диагностика всем пациентам, находящимся на учете с МВ, членам их семей и пациентам, с пограничными показателями хлоридов в поте (50-60 ммоль/л). Исследование позволило выявить особенности спектра и частот вариантов гена *CFTR* у пациентов из РБ в сравнении с данными национального регистра. Установлен спектр наиболее частых мутаций в гене *CFTR* у пациентов из РБ: F508del (54,65%), E92K (13,18%), 3849+10kbC>T (4,64%), CFTRdele2-3 (3,48%), L138ins (2,71%), N1303K (1,55%), 394delTT(1,55%). Варианты: p.[G509D;E217G], 2143delT, p.[R1070Q;S466X], S1196X, W1282X, Y84X, наблюдались более чем у одного пациента, их частота 1,16%. Частота встречаемости 22 вариантов: G194R, 1525-1G>A, G551D, 2184delA, 621+1G>T, L1335P (4136T>C), R117C (481C>T), 4061G>A (W1310X), D1152H (3586G>C), 1717-1G>A, 1367del5, 3821delT(S1231fs), 4015delA, 2184insA, W1282R, CFTRdup6b-10, 2485C>T (R785X), S737F, 3041-15T>G, 12TG5T, W19G, с.3883_3888dup составила менее 1%, варианты S737F, 3041-15T>G, 12TG5T, W19G, с.3883_3888dup впервые выявлены у пациентов из России. Впервые определены частоты комплексных аллелей с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F) (8,11%), p.[R1070Q;S466X] (1,16%), p.[G509D;E217G] (1,16%).

Теоретическая и практическая значимость результатов. Результаты исследования позволили идентифицировать молекулярно-генетическую архитектуру МВ у пациентов из РБ, что позволило разработать научно обоснованный алгоритм ДНК-диагностики, оптимальный для РБ с учетом популяционных особенностей региона. Впервые с учетом результатов ДНК-диагностики пациентам назначена современная таргетная терапия.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для улучшения качества медико-генетического консультирования пациентов и отягощенных семей по МВ в РБ: применение регион специфичных особенностей для алгоритма ранней идентификации в первую очередь 15 мутаций (варианты нуклеотидной последовательности, варианты) в гене *CFTR*: F508del, E92K, 3849+10kbC->T, CFTRdele2-3, L138ins, N1303K, 394delTT, S1196X, p.[R1070Q;S466X], p.[G509D;E217G] (1,16%), 2143delT, Y84X, W1282X, G194R, 1525-

1G>A, суммарная частота их составила 90,26%. Дополнительно определяется вариант с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F), который образует комплексный аллель с самой распространенной мутацией F508del и приводит к не эффективности таргетной терапии.

Методология и методы диссертационного исследования. В настоящей работе проведен проспективный анализ клинических и лабораторных параметров больных МВ из РБ, в молекулярно-генетическое исследование включены 1403 человек, включая членов семей, контрольные и популяционные выборки.

Исследование уровня хлоридов в поте проводились на приборе для сбора и анализа проводимости пота «Nanoduct». Неонатальный скрининг: измерение человеческого иммунореактивного трипсина (ИРТ) в образцах пятен цельной крови, собранных с использованием фильтровальной бумаги (Schleicher and Schuell's #903) проводился методом иммуноферментного анализа на оборудовании Wallak (Финляндия). Измерение флюоресценции проведено на приборе Виктор-2. Состояние и функцию легких определяли по показателю форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ,%) и объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1,%), согласно критериям Европейского респираторного общества (ERS) и Американского торакального общества (ATS). Микробиологические исследования флоры дыхательных путей сделаны в бактериологических лабораториях, оценку хронического высева диагностировали согласно рекомендациям клиническим рекомендациям «Кистозный фиброз (муковисцидоз): микробиологическая диагностика хронической респираторной инфекции», 2018 г. Молекулярно-генетическое исследование проводилось с использованием мультиплексной лигазно-зависимой амплификации зондов (SALSA MLPA Probemix P091 CFTR, MRC Holland), таргетного секвенирования следующего поколения (NGS) гена *CFTR* (Набор ParseqLab, Россия) на платформе Illumina (MiSeq, США), с валидацией полученных результатов секвенированием по Сэнгеру. Оценку функциональной значимости изменений нуклеотидной последовательности генов проводили, используя различные базы данных и предсказательные программы (SIFT, Polyphen2, MutPred, VarSome, EIGEN, FATHMM, PROVEAN, LRT и т.д.). Для анализа результатов NGS секвенирования использовалась программное обеспечение «VariFind». Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft) и SPSS.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Неравномерная распространенность муковисцидоза в 20 из 54 районов РБ, средний возраст пациентов в РБ $14,7 \pm 9,6$ лет, доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет – 25,5%. Средний возраст постановки диагноза – $3,3 \pm 6,0$, женщин с диагнозом МВ – 57,1%.
2. «Мягкий» фенотип заболевания установлен у 19,0% пациентов, «тяжелый» фенотип – у 81,0%. Средний показатель функции внешнего дыхания составил $80,1 \pm 26,7\%$ у детей, у взрослых – $70,3 \pm 22,6\%$. Частота инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* – 42,4%.

3. Идентификация молекулярного дефекта заболевания в 96,12%отягощенных семей. У пациентов из РБ выявлено 35 патогенных изменений нуклеотидной последовательности в гене *CFTR*, суммарная частота 15 мутаций составила 90,26%, большинство пациентов (79%) являются гомозиготными или компаунд-гетерозиготными носителями мутации F508del, частота комплексного аллеля L467F/F508del - 8,11%.
4. Генетическая гетерогенность МВ в этнических группах РБ, мутации, характерные для пациентов татарского и башкирского происхождения.
5. Алгоритм ДНК-диагностики МВ в РБ на основе идентификации 15 мутаций гена *CFTR*, с дополнительным определением варианта с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F), с последующим назначением таргетной терапии.

Степень достоверности. Достоверность полученных результатов определяется соответствием дизайна исследования критериям доказательной медицины, репрезентативностью исследуемой группы пациентов, качественным проведением лабораторных и молекулярно-генетических исследований. Первичная документация и материалы статистической обработки проверены и признаны достоверными. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых изданиях. Выводы, сформулированные по результатам диссертационной работы, соответствуют поставленным задачам.

Апробация результатов диссертации. Результаты диссертационной работы представлены на многочисленных научных конференциях: XV Национальный конгресс «Инновационные методы диагностики и терапии муковисцидоза. Прорыв в будущее» (Суздаль, 2021 г.); III Всероссийская конференция «Высокопроизводительное секвенирование в геномике» (Новосибирск, 2022 г.); XIII научная конференция «Генетика человека и патология» (Томск, 2022 г.); Всероссийская научная конференция с международным участием «Геномика и биотехнология для медицины и сельского хозяйства», (Уфа, 2022 г.); I Всероссийская научная конференция с международным участием «Персонализированная медицина и современные генетические технологии» (Уфа, 2023 г.); «I Национальный конгресс по наследственным заболеваниям легких с международным участием» (Санкт-Петербург, 2024 г.); VI всероссийский научно-практический конгресс с международным участием «Орфанные болезни» (Москва, 2024 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационное исследование соответствуют паспорту специальности: 1.5.7. Генетика (медицинские науки), область исследования п.19: «Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Медико-генетическое консультирование. Болезни с наследственной предрасположенностью. Генетика старения. Иммуногенетика. Онкогенетика. Генетика поведения. Молекулярно-генетическая/биохимическая диагностика заболеваний человека. Фармакогенетика. Генотоксикология. Генетическая терапия».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 6 научных статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК (3 из которых в журналах, индексируемых в Scopus и WoS/Scopus, из них 1 относящаяся к Q2).

Внедрение результатов исследования. Алгоритм ДНК-диагностики МВ на основе популяционных особенностей народов РБ внедрен в работу ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр (г. Уфа), результаты исследования применены для назначения модуляторов *CFTR* пациентам с муковисцидозом.

Личный вклад автора. Тема, цели и задачи диссертационной работы определены совместно с научным руководителем доктором биологических наук Хусаиновой Р.И. Все этапы диссертационной работы выполнены при непосредственном участии автора. Подготовка рукописи диссертационной работы, автореферата и публикаций по результатам исследований проводились лично автором.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 179 страницах машинописного текста, включает в себя введение, обзор литературы, 3 главы собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, список литературы. Рукопись иллюстрирована 22 таблицами, 11 рисунками. Указатель литературы включает 171 источников, из которых 129- зарубежная литература.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Материал исследования Проведен мониторинг медицинских документов пациентов с МВ (n=294), наблюдавшихся за период с 1998 по 2023гг., сформирован регистр муковисцидоза РБ с учетом показателей уровня хлоридов в поте и данных неонатального скрининга. Критерии включения пациентов: уровень хлоридов в поте: пограничный - 50 - 80 ммоль/л, положительный более 80 ммоль/л; высокие показатели иммунореактивного трипсина (ИРТ) при анализе данных неонатального скрининга, ретест на 21 - 56 день норма менее 40 нг/мл). Критерии исключения: показатели хлоридов в поте менее 50 ммоль/л. Отказ пациента или его родителей от участия в исследовании.

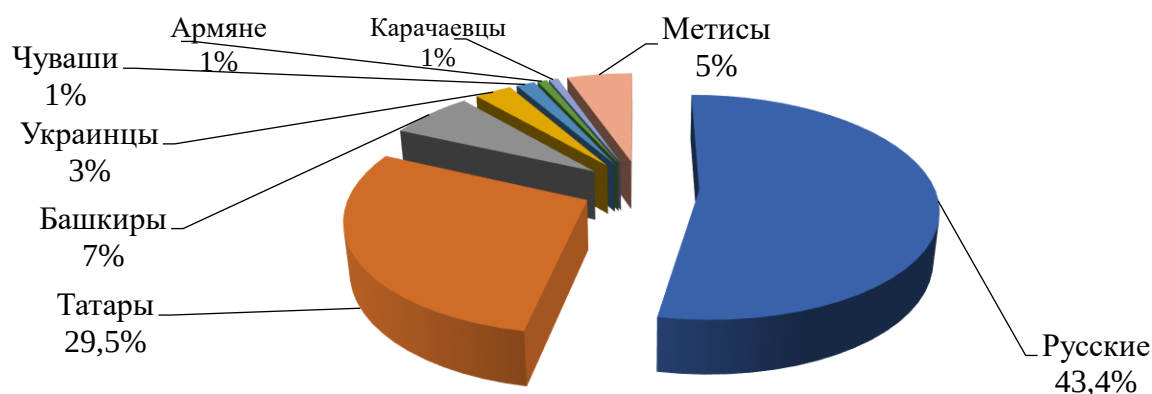


Рисунок 1 - Распределение семей с муковисцидозом по этническому происхождению.

Этнический состав пациентов установлен на основе анкетирования и информации о происхождении до третьего поколения (рис. 1).

Кроме того, использованы выборки членов семей ($n = 250$), контроля ($n=100$) и наиболее многочисленных популяций РБ ($n=859$) (332 башкир, 199 татар, 328 русских). Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

Исследование одобрено Биоэтическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, протокол № 11 от 16.12.2020 г. Все участники исследования подписали информированное согласие.

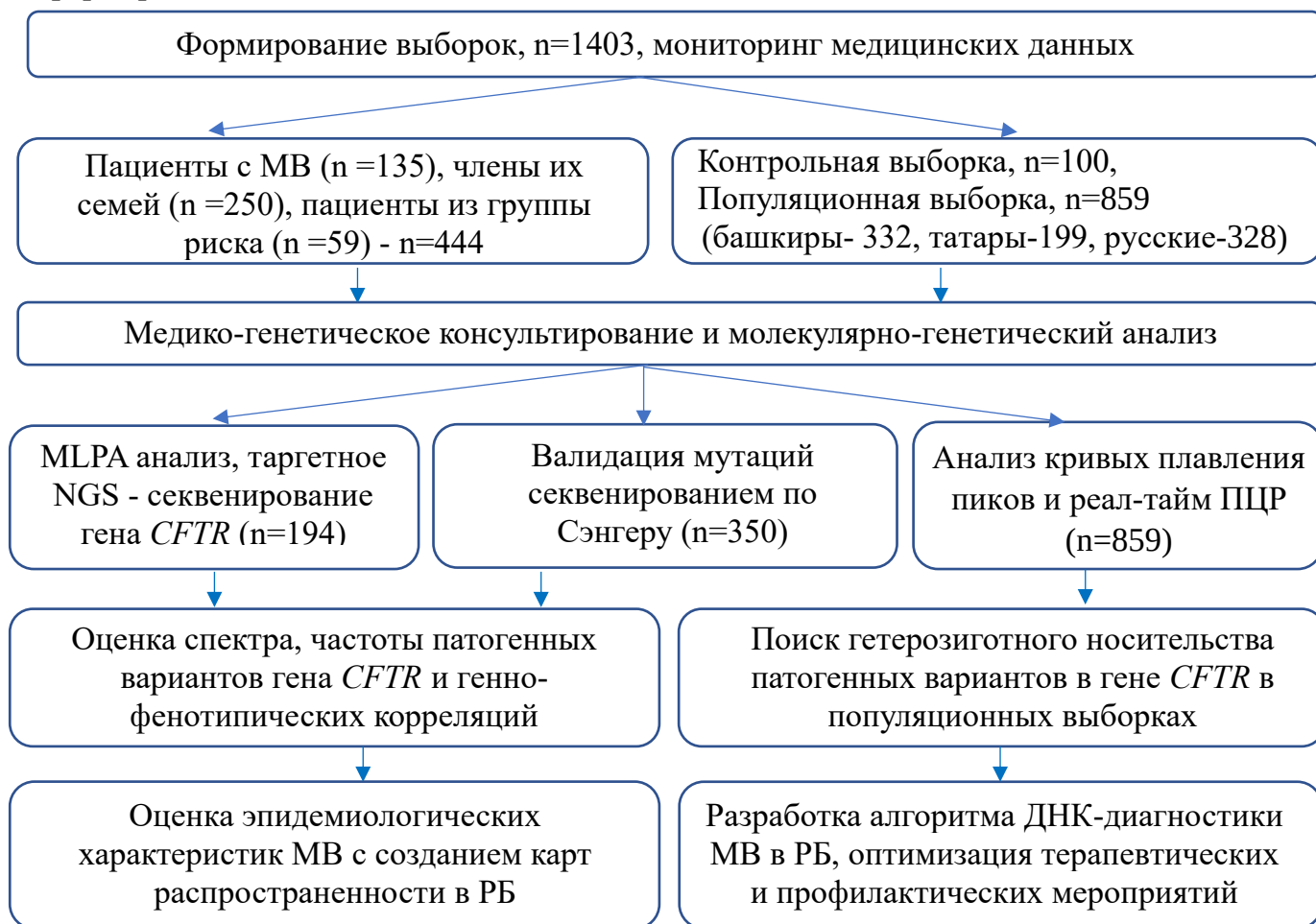


Рисунок 2 – Дизайн исследования.

Клинико-лабораторные методы исследования. Потовые пробы проводились на приборе для сбора и анализа проводимости пота «Nanoduct». Состояние и функцию легких определяли по показателю форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ,%) и объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1,%).

Выделение геномной ДНК из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции с помощью мини-набора QIAamp DNA Blood (Qiagen) и разведена в воде. Количество ДНК доводили до 10 нг за реакцию, концентрацию проверяли с помощью флуорометра Qubit® 3.0 (Thermo Fisher Scientific, Inc.).

Генотипирование. Тестирование образцов ДНК проведено с помощью коммерческого набора SALSA MLPA (SALSA MLPA Probemix P091 CFTR, MRC Holland). Анализ фрагментов проводился на генетическом анализаторе с проведением капиллярного электрофореза (3500xL, AppliedBiosystems, США). Проведено таргетное высокопроизводительное секвенирование (NGS) гена CFTR (набор ParseqLab, Россия) на платформе Illumina (MiSeq, США) с валидацией результатов секвенированием по Сенгеру (3500XL, AppliedBiosystems, США). Скрининг гетерозиготного носительства мутаций в популяциях осуществлен с применением методов анализа кривых плавления пиков и реал-тайм ПЦР (собственные разработки и тест-системы АО «Вектор Бест»).

Биоинформатический анализ. Для анализа результатов NGS секвенирования использовалось программное обеспечение «VariFind». Генетические варианты, выявленные у индивидуумов, были оценены с точки зрения их влияния на структуру и/или функцию белка с использованием различных инструментов биоинформатики и баз данных (Annovar, SIFT, Mutation Tester). MutPred; 1000 геномов, Консорциум по агрегации экзотов, dbSNP, HGMD и др.). Патогенность выявленных вариантов оценена на основе рекомендаций по интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования

Статистический анализ проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft) и SPSS, применен критерий χ^2 с поправкой Йейтса. В рамках параметрической статистики данные записывались как среднее значение (M) $\pm$ стандартное отклонение (SD) или медиана (Me) - интерквартильный размах; в рамках непараметрической статистики. Значение при $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Результаты исследования и обсуждение

Эпидемиология муковисцидоза в Республике Башкортостан

В 2023г. в мире МВ насчитывалось около 100 000 людей [Красовский, С.А. и др., 2019], выявляется заболевание неравномерно, в Европе - от 1 на 1350 в Ирландии до 1 на 25000 новорожденных в Финляндии [Elborn, J.S., 2016, Salvatore, D., 2011]. Выявленная частота встречаемости МВ в РБ составила 1 на 35000 новорожденных, что меньше средней распространенности по стране (от 1:2500 до 1:12000 новорожденных), в среднем в год в России рождается 150 детей с МВ [Шерман В.Д. и др., 2017, Каширская, Н.Ю. и др., 2021]. Частота встречаемости МВ в РБ: 0,024 на 1000 населения, что ниже распространенности по РФ: 0,027 на 1000 населения, в связи с многочисленностью народов тюркского происхождения, для которых МВ не является частым заболеванием.

В РБ преобладают женщины среди пациентов с МВ, а по данным Российского регистра по стране больше пациентов мужского пола, регистрируется увеличение доли взрослых пациентов МВ (в 2023 г. доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет 25,5%, в 2019 г. - 21,5%), увеличение, в связи с внедрением в практическое здравоохранение современных методов диагностики и лечения. В пяти административных районах распространенность МВ

превышает 0,05 ‰: Бижбулякском - 0,140 ‰, Буздякском - 0,059‰, Иглинском - 0,057‰, Стерлитамакском - 0,53‰, Шаранском - 0,053 ‰ (рис. 3).

При анализе распространенности в районах республики отмечается выраженная территориальная неоднородность. В совокупности из этого следует, что необходимо вести эпидемиологический мониторинг заболевания с применением единых методов диагностики.

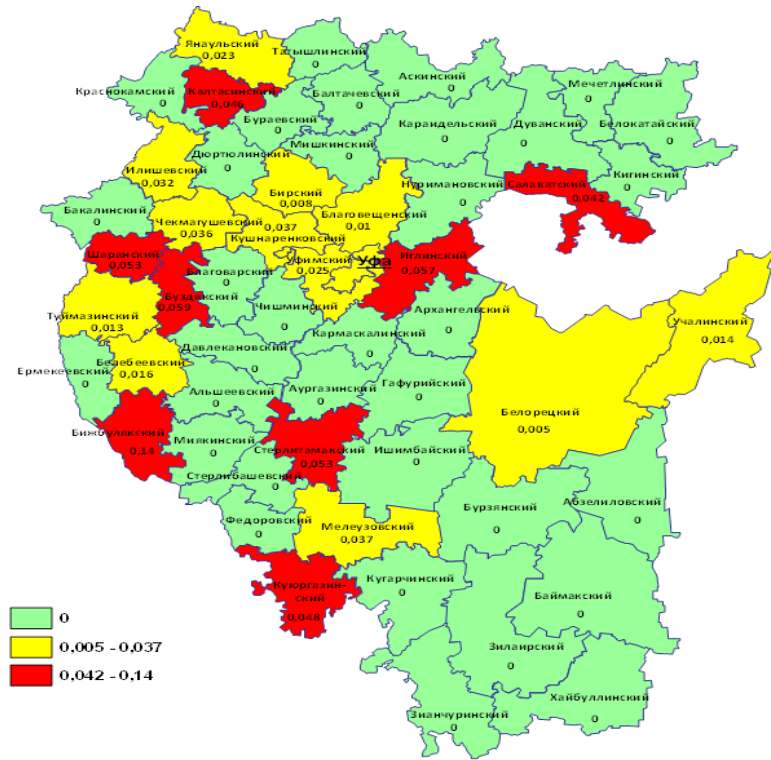


Рисунок 3 – Карта распространенности МВ в РБ.

Клинико-лабораторная характеристика муковисцидоза в РБ

За период наблюдения с 2019 г. по 2023 г. количество пациентов с подтвержденным диагнозом МВ в РБ увеличилось с 86 до 98 человек, выявлено 6 человек с гетерозиготным носительством патогенных вариантов в гене *CFTR* в отягощенных семьях среди sibсов пациентов родителей пациентов (табл. 1). Определен микробиологический статус, частота встречаемости хронического инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* составила - 42,4%, в РФ - 34,1%. В РБ ОФВ1,% и ФЖЕЛ,%: у детей были $80,1 \pm 26,7$ и $84,5 \pm 21,6$; медианы: 81,5 (35,6) 86,0 (28,0), соответственно; у взрослых пациентов $70,3 \pm 22,6$ и $87,1 \pm 20,7$; медианы: 60,0 (41,4) и 77,5 (34,4), соответственно.

Таблица 1. Демографические и диагностические показатели у пациентов с муковисцидозом

№ п.п.	Показатель	РБ	РФ [Кондратьева Е.И и др., 2022]
1.	Общее число, абс., М/Ж	98 42/56	3722 1935/1787
2.	Живые, n Летальный исход, n	98 2	3722 32
3.	Возраст, годы		
3.1.	М ± SD, годы Me (IQR); Me (Q25;Q75)	14,7±9,6 12,5 (13,1) 12,5 (7,2 -20,3)	13,7±9,7 11,4(12,4) 11,4 (6,3-18,7)
3.2.	Доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет, %	25,5	26,5

Продолжение таблицы 1

4.	Возраст установления диагноза, год		
4.1.	M ± SD, годы Me (IQR); Me (Q25;Q75)	3,3±6,0 0,5(3,1) 0,5(0,2-3,3)	3,6±6,1 0,4 (2,8) 0,4 (0,1-2,9)
5.	Мекониевый илеус		
5.1.	всего, n(%)*	0,98	8,9
5.2.	Оперирован, n(%)*	0,98	14,9
5.3.	Не оперирован, n(%)*	0	1,0
6.	Неонатальный скрининг		
6.1.	Охват в 2023, n(%)	99,7	80,2

При проведении неонатального скрининга за период с 2006 г. по 2023 г. 48 (88,9%) больным диагностирован МВ, всего за этот период МВ установлен 55 пациентам - не дает 100% точность диагностики МВ. Охват в 2023 г. составил 99,7%, МВ установлен: в 2019 г. - 2, 2020 г. - 2, 2021 г. - 1, 2022 г. - 1, 2023 г. - 1 пациенту, всего 7 случаев МВ.

Молекулярно-генетический ландшафт муковисцидоза в РБ

ДНК-диагностика муковисцидоза проводилась в Республике Башкортостан с конца 90-х годов прошлого века на базе лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, таким образом, поиск частых мутаций в гене *CFTR* проведен у 444 человек. За период 1998 - 2023 гг. МВ выявлен у 135 человек из 129 семей.

Всего обнаружено 35 вариантов патогенных изменений в гене *CFTR* (таб. 2), обе мутации установлены в 96,12% семей. Наиболее частыми являются 15 мутаций в гене *CFTR*: F508del (54,65%), E92K (13,18%), 3849+10kbC->T (4,64%), CFTRdele2-3 (3,48%), L138ins (2,71%), N1303K (1,55%), 394delTT (1,55%), S1196X (1,16%), p. [S466X; R1070Q] (1,16%), p.[G509D; E217G] (1,16%), 2143delT (1,16%), Y84X (1,16%), W1282X (1,16%), G194R (0,77%), 1525-1G>A (0,77%), суммарная частота их составила 90,26%. Остальные мутации единичные и не являются регион специфичными, таким образом, экзоны 4 и 11, интрон 22, делеции 2 и 3 экзонов гена *CFTR* необходимо анализировать в первую очередь. Спектр и частота мутаций в гене *CFTR* в РБ отличается от общероссийских показателей [Регистр пациентов с муковисцидозом в РФ. 2021 г.], где наиболее распространенными являются варианты F508del (51,55%), E92K (3,46%), 3849+10kbC>T (2,22%), CFTRdele2-3 (6,11%), L138ins (1,64%), N1303K (0,85%).

Впервые в РБ определена частота комплексных аллелей p.[S466X; R1070Q] (1,16%), p.[G509D; E217G] (1,16%) и значимого для назначения таргетной терапии p.[F508del, L467F] (8,11 %), что выше показателя по стране 4,22 % [Петрова Н. В., Кондратьева Е.И., и др., 2022]. Большинство пациентов (79%) являются гомозиготными или компаунд-гетерозиготными по мутации F508del, ее общая частота составила 54,65%. Самая высокая частота - 85,7% - была выявлена у пациентов украинского происхождения, 62,7% - у русских, 46,7% - у татар, 40% - у башкир и 25% - у чувашей.

Таблица 2. Спектр и частота патогенетических изменений нуклеотидной последовательности гена *CFTR* у пациентов с МВ

№ п.п.	Название	cDNA	Белок	РБ		РФ**		χ^2 *	p
				н	%	н	%		
1.	F508del	c.1521_1523del	p.Phe508del	141	54,65	3829	51,55	0,834	0,362
2.	E92K	c.274G>A	p.Glu92Lys	34	13,18	257	3,46	61,993	<0,001*
3.	3849+10kbC>T	c.3718-2477C>T	-	12	4,64	165	2,22	6,541	0,011
4.	CFTRdele2.3	c.54-5940_270+10250del21kb	p.Ser18ArgfsX16	9	3,48	454	6,11	3,033	0,082
5.	L138ins	c.413_415dupTAC	p.Leu138dup	7	2,71	122	1,64	1,731	0,189
6.	N1303K	c.3909C>G	p.Asn1303Lys	4	1,55	113	1,52	0,001	0,971
7.	394delTT	c.262_263del	p.Leu88IlefsTer22	4	1,55	63	0,85	0,726	0,395*
8.	p.[G509D; E217G]	[c.1526G>A; c.650A>G]	p. [Gly509Asp; p.Glu217Gly]	3	1,16	1	0,01	63,312	<0,001
9.	2143delT	c.2012del	p.Leu671Ter	3	1,16	147	1,98	0,494	0,483*
10.	p. [S466X; R1070Q]	[c.1397C>G; c.3209G>A]	[p.Ser466Ter; p.Arg1070Gln]	3	1,16	34	0,46	1,222	0,270*
11.	S1196X	c.3587C>G	p.Ser1196Ter	3	1,16	32	0,43	1,553	0,213*
12.	W1282X	c.3846G>A	p.Trp1282Ter	3	1,16	128	1,72	0,193	0,661*
13.	Y84X	c.252T>A	p.Tyr84Ter	3	1,16	4	0,05	22,609	<0,001*
14.	G194R	c.580G>A	p.Gly194Arg	2	0,77	5	0,07	13,729	<0,001
15.	1525-1G>A	c.1393-1G>A	-	2	0,77	1	0,01	20,127	<0,001*
16.	G551D	c.1652G>A	p.Gly551Asp	1	0,39	3	0,04	1,031	0,310*
17.	2184delA	c.2052delA	p.Lys684Asnfs*38	1	0,39	2	0,03	1,639	0,201*
18.	621+1G>T	c.489+1G>T	-	1	0,39	14	0,19	0,000	0,996*
19.	L1335P (4136T>C)	c.4004T>C	p.Leu1335Pro	1	0,39	13	0,18	0,002	0,965*
20.	R117C (481C>T)	c.349C>T	p.Arg117Cys	1	0,39	7	0,09	0,207	0,650*
21.	4061G>A (W1310X)	c.3929G>A	p.Trp1310Ter	1	0,39	23	0,31	0,120	0,729*
22.	D1152H (3586G>C)	c.3454G>C	p.Asp1152His	1	0,39	9	0,12	0,083	0,773*
23.	1717-1G>A	c.1585-1G>A	-	1	0,39	4	0,05	0,680	0,410*
24.	1367del5	c.1243_1247delAACAA	p.Asn415Ter	1	0,39	31	0,42	0,175	0,676*
25.	3821delT (S1231fs)	c.3691delT	p.Ser1231ProfsX4	1	0,39	38	0,51	0,029	0,866*
26.	4015delA	c.3883delA	p.Ile1295PhefsX33	1	0,39	13	0,18	0,002	0,965*
27.	2184insA	c.2052_2053insA	p.Gln685ThrfsX4	1	0,39	144	1,94	2,457	0,117*
28.	W1282R	c.3844T>C	p.Trp1282Arg	1	0,39	128	1,72	1,947	0,163*
29.	CFTRdup6b-10	c.(743+1_744-1)_ (1584+1_1585-1)dup	-	1	0,39	10	0,13	0,048	0,827*
30.	2485C>T (R785X)	c.2353C>T	p.Arg785X	1	0,39	12	0,16	0,010	0,922*
31.	S737F	c.2210C>T	p.Ser737Phe	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
32.	-	c.3883_3888dup	p.Ile1295_Phe1296dup	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
33.	3041-15T>G	c.2909-15T>G	-	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
34.	12TG5T	c.1210-11T>G	-	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
35.	W19G	c.55T>G	p.Trp19Gly	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
36.	Не выявлено (X)			5	1,94	377	9,5%	4,555	0,033
Число хромосом				258	100				

* критерий χ^2 с поправкой Йейтса ** Согласно данным Регистра МВ РФ 2021 г., частота рассчитана на 3713 пациента.

В выборке только 2 хромосомы армянского происхождения и 2 хромосомы узбекского, в которых также обнаружена эта мутация, но малочисленность этих групп не позволяет нам оценить истинную частоту мутации в этих этнических группах.

На основе полученной информации и ДНК-анализа все выявленные мутации распределены по хромосомам в соответствии с этническим происхождением родителей, даже в случае метисного брака и проведен анализ частот и спектра мутаций в каждой этнической группе пациентов.

В трех наиболее многочисленных когортах пациентов (русские, татары и башкиры) наблюдается выраженная неоднородность по спектру и частотам мутаций (рис. 4). У пациентов русской национальности выявлено 19 мутаций, у татар - 17, у башкир - 6. Только 5 мутаций распространены у русских и татар, 4 мутации - у русских и башкир, и только 4 - у татар и башкир, хотя они обе принадлежат тюркской группе алтайской языковой семьи.

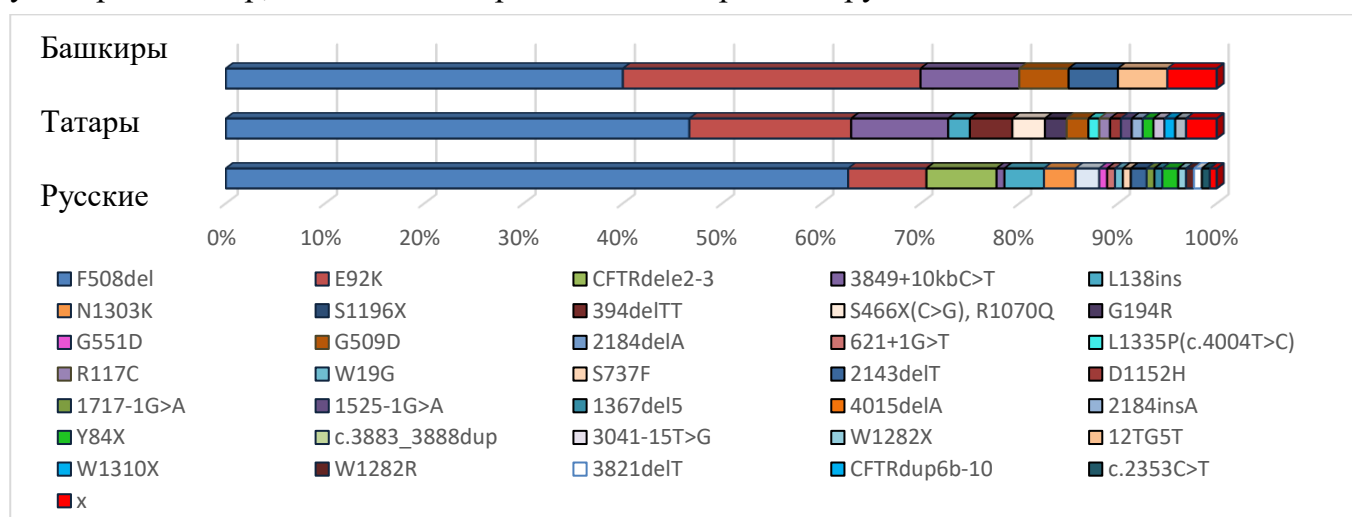


Рисунок 4. – Сравнительный анализ распределения спектра и частот мутаций в гене *CFTR* между когортами пациентов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности.

У пациентов русского происхождения 9 мутаций (F508del, E92K, CFTRdele2-3, 3849+10kbC>T, L138ins, N1303K, S1196X, 2143delT, Y84X) составляют 91,3%. Мутации G551D, 621+1G>T, W19G, S737F, 1717-1G>A, 1367del5, W1282R, 3821delT, c.2353C>T выявлены только у пациентов русской национальности (таб. 3). У пациентов татарской этнической принадлежности 8 мутаций: F508del, E92K, 3849+10kbC>T, 394delTT, S466X (C>G), R1070Q, L138ins, G194R, G509D составили 87%. Мутации 394delTT, S466X (C>G), R1070Q, G194R, G509D, L1335P, R117C, D1152H, W1310X, 2184insA, 3041-15T>G обнаружены только на хромосомах татарского происхождения. На 80% хромосом башкирского происхождения обнаружены 3 мутации: F508del, E92K и 3849+10kbC>T. Мутации 12TG5T, 2143delT, p.[G509D;E217G] выявлены однократно у пациентов башкирского происхождения с частотой 5%.

Таблица 3. Частота мутаций в гене *CFTR* с учетом этнического происхождения хромосом пациентов

№ п.п.	Мутация	Русские 126		Татары 92		Башкиры 20		Украинцы 8		Чуваши 4		Армяне 2		Узбеки 2		Белорусы 1		Карачаевцы 2		Поляки 1	
1	F508del	79	0,627	43	0,467	8	0,400	7	0,875	1	0,250	1	0,500	1	0,500	1	1,000	0	0,000	0	0,000
2	E92K	10	0,079	15	0,163	6	0,300	0	0,000	3	0,750	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
3	CFTRdele2-3	9	0,071	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
4	3849+10kbC>T	1	0,008	9	0,098	2	0,100	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
5	L138ins	5	0,040	2	0,022	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
6	N1303K	4	0,032	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
7	S1196X	3	0,024	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
8	394delTT	0	0,000	4	0,043	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
9	S466X(C>G), R1070Q	0	0,000	3	0,033	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
10	G194R	0	0,000	2	0,022	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
11	G551D	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
12	G509D	0	0,000	2	0,022	1	0,050	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
13	2184delA	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,125	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
14	621+1G>T	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
15	L1335P(c.4004T>C)	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
16	R117C	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
17	W19G	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
18	S737F	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
19	2143delT	2	0,016	0	0,000	1	0,050	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
20	D1152H	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
21	1717-1G>A	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
22	1525-1G>A	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,500	0	0,000	0	0,000	0	0,000
23	1367del5	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
24	4015delA	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,500	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
25	2184insA	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
26	Y84X	2	0,016	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
27	c.3883_3888dup	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	1,000
28	3041-15T>G	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
29	W1282X	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	2	1,000	0	0,000
30	12TG5T	0	0,000	0	0,000	1	0,050	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
31	W1310X	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
32	W1282R	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
33	3821delT	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
34	CFTRdup6b-10	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
35	2485C>T (R785X)	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
36	x	1	0,008	3	0,033	1	0,050	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000

У пациентов чувашской национальности, помимо мутации E92K, обнаружена F508del, у пациентов украинского происхождения - наряду с мутацией F508del обнаружен вариант 2184delA, у армян наряду с F508del обнаружена мутация 4015delA. У пациента карачаевского происхождения обнаружена только мутация W1282X в гомозиготном состоянии, на хромосоме польского происхождения обнаружена ранее неописанная мутация c.3883_3888dup (p.Ile295_Phe1296dup).

У 5 пациентов мутации были выявлены в гетерозиготном состоянии, несмотря на повышенный уровень хлоридов в поте и наличие клинических проявлений заболевания, среди них 3 пациента были татарской, один башкирской и один русской национальности.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии генетической гетерогенности по частоте и спектру мутаций у пациентов с МВ разного этнического происхождения, проживающих в РБ. Полученная картина укладывается в идею о том, что спектр мутаций для разных популяций и географических групп имеет специфическую закономерность, и при проведении молекулярно-генетической диагностики необходимо учитывать это, чтобы упростить и ускорить поиск патогенных вариантов у пациента с учетом этнической и социальной принадлежности. региональные особенности.

Анализ клинико-генетических корреляций с тяжестью заболевания с учетом класса патогенности мутаций

Гено-фенотипические корреляции при МВ зависят патогенных изменений в гене *CFTR* и от модифицирующих факторов, известно, что одни и те же мутации у разных пациентов могут проявляться с различной степенью тяжести заболевания. В зависимости от механизма влияния на функцию белка CFTR варианты нуклеотидной последовательности гена *CFTR* подразделяют на 7 классов [De Boeck K., 2020, Lopes-Pacheco M., 2016]. Генетические варианты I-III и VII классов приводят к полному или почти полному прекращению функции хлорного канала и относятся к «тяжелым». Генетические варианты IV - VI классов относятся к группе «мягких», в связи с сохранением остаточной активности хлорного канала и экзокринной панкреатической функции. «Мягкие» варианты доминируют над «тяжелыми» в отношении панкреатического фенотипа. Современные технологии ДНК диагностики позволяют выявлять новые генетические варианты гена *CFTR* [Ефремова А.С. и др, 2021].

«Тяжелые» генотипы преобладают среди пациентов РБ во всех возрастных группах, однако их число снижается с возрастом, как и в РФ. Анализ генно-фенотипических корреляций проведен для пациентов, состоящих на учете в настоящее время, без учета умерших пациентов, а также переехавших в другие регионы.

В 2023 г. под наблюдением находились 98 пациентов из 92 семей, в 6-ти семьях по 2 больных ребенка. За период с 2019 по 2023 гг. умерло 2 пациента, в возрасте 17 и 20 лет. Диагноз установлен согласно стандартам диагностики МВ, с анализом клинических,

лабораторных, функциональных, рентгенологических, бактериологических данных исследований [КР «Кистозный фиброз», 2021, Капранов Н.И. и др., 2014].

Таблица 4. Характеристика классов патологических вариантов гена *CFTR* в РБ

№ п.п.	Мутации в гене <i>CFTR</i>	Класс	Функциональный класс	Классификация в базе CFTR2
1.	F508del	II	тяжелый	патогенный
2.	E92K	не определен	мягкий	патогенный
3.	CFTRdele2,3	VII	тяжелый	патогенный
4.	3849+10kbC>T	V	мягкий	патогенный
5.	L138ins	IV	мягкий	патогенный
6.	N1303K	II	тяжелый	патогенный
7.	S1196X	I	тяжелый	патогенный
8.	394delTT	I	тяжелый	патогенный
9.	S466X (C>G), R1070Q	не определен	тяжелый	патогенный
10.	G194R	не определен	не определен	патогенный
11.	G551D	III	тяжелый	патогенный
12.	E217G;G509D	не определен	мягкий	не описан
13.	621+1G>T	I	тяжелый	патогенный
14.	L1335P(c.4004T>C)	IV	мягкий	патогенный
15.	R117C	IV	мягкий	патогенный
16.	W19G	не определен	не определен	не описан
17.	S737F	не определен	не определен	не описан
18.	2143delT	I	тяжелый	патогенный
19.	1717-1G>A	I	тяжелый	патогенный
20.	1525-1G>A	I	тяжелый	патогенный
21.	1367del5	I	тяжелый	патогенный
22.	4015delA	I	тяжелый	патогенный
23.	2184insA	I	тяжелый	патогенный
24.	Y84X	I	тяжелый	не описан
25.	c.3883_3888dup	не определен	не определен	патогенный
26.	W1282X	I	тяжелый	патогенный
27.	12TG5T	не определен	не определен	патогенный
28.	W1310X	I	тяжелый	не описан
29.	W1282R	II	тяжелый	не описан
30.	3821delT	I	тяжелый	патогенный
31.	CFTRdup6b-10	не определен	не определен	не описан
32.	D1152H	IV	мягкий	Различные клинические варианты
33.	2184delA	I	тяжелый	патогенный
34.	3041-15T>G	не определен	не определен	не определен
35.	2485C>T (R785X)	I	тяжелый	патогенный

Молекулярный дефект идентифицирован у 94,89% (93/98) пациентов с МВ, выявлены 35 мутаций в гене *CFTR* (таб. 4). По результатам проведенной ДНК диагностики в 2023г. в РБ наблюдаются 98 пациентов идентифицировано 44 генотипа, у 5-и пациентов выявлена 1 мутация, хотя имеются высокие показатели хлоридов в поте, все пациенты находятся под

динамическим клиническим наблюдением.

Проведен скрининг мутаций в гене *CFTR* у 250 членов отягощенных семей, среди которых 147 - родители пациентов, 15 - сибсы пациентов, 88 – другие родственники (сибсы родителей пациентов), установлено гетерозиготное носительство мутаций у 6 человек, всем проведено медико-генетическое консультирование и при планировании деторождения предложено проведение ДНК-диагностики второму родителю для определения гетерозиготного носительства и с возможностью пренатальной ДНК-диагностики.

Также проведена пренатальная ДНК-диагностика муковисцидоза у 29 беременных женщин из отягощенных семей. В 13 случаях патогенные варианты у плода не выявлены, в 12 - обнаружено гетерозиготное носительство. В 4-х случаях идентифицированы мутации в гене *CFTR* в гомозиготном состоянии и по решению семей беременности были прерваны.

Охват генетическим обследованием пациентов с МВ в РБ в 2019-2023 гг. составил 100%, что выше по сравнению с показателем охвата по РФ – 93% (таб. 5).

Таблица 5. Характеристика эффективности ДНК-диагностики и частота мажорной мутации в гене *CFTR* среди пациентов с МВ в РБ и в РФ

№ п.п.	Варианты в гене <i>CFTR</i>	РБ, %	РФ, %
1.	Генетическое исследование (охват)	100	93
2.	Доля выявленных вариантов гена <i>CFTR</i>		
Генотип	Две мутации	94,89	83,3
	Одна мутация	5,11	13,3
Мажорная мутация	F508del/ F508del	19,2	30,0
	F508del/ неF508del	54,5	45,2
	неF508del/ неF508del	26,3	24,8
	F508del, аллельная частота	45,7	52,6
Течение заболевания	«Мягкий» фенотип	19,0	23,2
	«Тяжелый» фенотип	81,0	76,8

Поражение бронхолегочной системы наблюдалось и при «тяжелых», и «мягких» генотипах пациентов (таб. 6).

Таблица 6. Клиническая характеристика течения МВ при сочетании мутаций в гене *CFTR*

№ п.п.	Показатель	Функциональные нарушения работы белка		
		«Тяжёлый»/ «мягкий»	«Тяжёлый»/ «тяжёлый»	«Мягкий»/ «мягкий»
1.	Число, абс.	33	36	24
2.	Неонатальный скрининг, абс.	21	28	20
3.	Возраст постановки диагноза	1,5±4,5	1,0±5,1	5,2±8,3
4.	Мекониевый илеус	-	1	-
5.	Фекальная эластаза (<200нг), %	<100,0	<100,0	>100,0
6.	Осложнения поражения дыхательных путей, %	95,3	100	59,3

Продолжение таблицы 6

7.	Диабет, абс	2	5	0
8.	Цирроз печени, абс	6	9	1
9.	Синдром псевдо-Барттера	3	10	0
10.	Возраст пациентов	13,9±9,1	12,8±8,7	26,9±11,2
11.	Хлориды пота, ммоль/л	60,5 ± 27,3	100,2 ± 25,3	60,5 ± 26,7

При «тяжелом» генотипе заболевание характеризовалось патологией органов пищеварения, дыхания, развитием осложнений со стороны других органов и систем.

Выявлена связь тяжести заболевания от сроков манифестации: ранняя манифестация МВ приводит к тяжелому течению заболевания, степень тяжести течения и вариабельность клинической картины кистозного фиброза зависит от класса патогенности выявленных мутаций в гене *CFTR*.

Частота носительства наиболее частых мутаций в гене *CFTR* в этнических группах РБ

Мы провели поиск вариантов F508del, G542X, L138ins, E92K, W1282X, N1303K, 3849+10kb, R334W, S1196X, G85E, CFTRdele2-3, S466X, с.1624G>T, с.2184insA, с.2143delT, с.1677delTA в выборке из 859 человек, среди которых 332 башкир, 199 татар, 328 русских (дисперсные выборки из РБ) для выявления носителей патогенных вариантов рецессивных мутаций МВ. Мутации F508del и 3849+10kbC>T обнаружены у пациентов татарской, русской и башкирской этнической принадлежности. Частота мутации F508del выше у русских, что согласуется с литературными данными. Носительство мутации E92K выявлена у 2-х татар, CFTRdele2-3 и L138ins - у русских и башкир. Обнаружены носители редких мутаций - G509D, S1196X и 394delTT у пациентов татарской, R334W - у пациентов башкирской этнической принадлежности.

Обнаружено носительство редкого варианта R334W среди популяционной выборки из РБ, что свидетельствует о мутационном фоне среди жителей республики и вероятной метисации и внесении новых вариантов, что в последствии приведет к расширению спектра мутаций у пациентов, проживающих в РБ (таб. 7).

Таблица 7. Носительство мутаций в гене *CFTR* в популяционных выборках РБ

№ п.п.	Мутации	Башкиры N=332 / 664 хромосом		Татары N=199 / 398 хромосом		Русские N= 328 / 656 хромосом	
		абс.	частота	абс.	частота	абс.	частота
1	F508del	1	0,0015	2	0,005	5	0,0076
2	E92K	0	0	2	0,005	0	0
3	3849+10kbC>T	1	0,0015	1	0,0025	1	0,0015
4	CFTRdele2-3	1	0,0015	0	0	1	0,0015
5	L138ins	1	0,0015	0	0	3	0,0045
6	S1196X	0	0	1	0,0025	0	0
7	394delTT	0	0	1	0,0025	0	0
8	G509D	0	0	1	0,0025	0	0
9	R334W	1	0,0015	0	0	0	0
Всего:		5		8		10	

Наши данные вносят вклад в изучение популяционной отягощенности патогенными вариантами рецессивных заболеваний в целом и муковисцидоза в частности и демонстрируют, что их носительство может быть шире, чем спектр мутаций у пациентов из исследуемого региона.

Оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий

Нами также проведена комплексная оценка проводимого лечения МВ в РБ. Антибиотикотерапия, назначается в соответствии с чувствительностью выделенных микроорганизмов, с учетом ранее проводимого лечения [Smyth A.R. et al., 2013].

Терапия МВ включает лекарственный препарат дорназа альфа, ферменты, кинезиотерапию, витамины, урсодезоксихолевую кислоту, проводилась всем пациентам в РБ, принципиальных различий между показателями между РФ и РБ не выявлено (таб. 8). Назначение доз панкреатических ферментов осуществляется с учетом особенностей течения заболевания при «мягком» и «тяжелом» генотипе, проведена коррекция терапии у пациентов с вариантом E92K.

Таблица 8. Характеристика получаемой терапии у пациентов в РБ и РФ, (%)

№ п. п.	Лекарственный препарат	РБ	РФ	№ п. п.	Лекарственный препарат	РБ	РФ
1.	Дорназа альфа	100	95,2	8.	Глюкокортикостероиды системные	5,0	3,6
2.	Гипертонический раствор натрия хлорида	75,3	72,7	9.	Азитромицин	30,8	26,5
3.	Антибиотики ингаляционные	40,5	45,7	10.	Урсодезоксихолевая кислота	88,6	88,1
4.	Антибиотики внутривенные	35,7	32,3	11.	Панкреатические ферменты	95,3	93,3
5.	Антибиотики пероральные	60,5	57,4	12.	Жирорастворимые витамины	95,2	91,2
6.	Бронходилататоры	43,3	45,5	13.	Кинезиотерапия	95,7	81,6
7.	Глюкокортикостероиды ингаляционные	9,3	10,3	14.	Кислородотерапия	2,3	4,4

Согласно данным Фонда «Круг добра» в 2022г. РБ оказалась в лидерах по РФ по обеспечению пациентов до 18-летнего возраста таргетной терапией, так как всем пациентам РБ проведена подтверждающая ДНК-диагностика на базе ГБУЗ РМГЦ г. Уфа, что является главным критерием назначения таргетной терапии. К 2023г. в РБ обеспечены препаратами «лумакафтор+ивакафтор» - 11 и «элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор» - 33 детей.

Предварительные данные показали положительные результаты терапии по показателям здоровья у пациентов; установлены увеличение массы тела, снижение показателей потовой пробы через 1 год приема таргетных препаратов. Производится замена препарата лумакафтор+ивакафтор у пациентов с низкой эффективностью лечения на более эффективный таргетный препарат элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор, а 2025 года

планируется обеспечение этим препаратом пациентов с 2х летнего возраста. В динамике состояния здоровья ни у одного пациента не зафиксировано развития катаракты, у одного пациента отмечалась реакция в виде болей в животе и сыпи при первичном введении препарата лумакафтор+ивакафтор, препарат отменен и заменён на CFTR-модулятор элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор, отмечается положительная динамика. Оказание медицинской помощи пациентам с МВ необходимо реализовывать с учетом региональных особенностей спектра, частот и класса мутаций в гене *CFTR*.

ВЫВОДЫ

1. Установлена неравномерная распространенность муковисцидоза на территории Республики Башкортостан, частота заболевания составила 1 на 35 000 новорожденных или 0,024 на 1000 населения, что ниже, чем в среднем по РФ, средний возраст пациентов в РБ в 2023 году составил $14,7 \pm 9,6$ лет, доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет – 25,5%.
2. Объем форсированного выдоха у детей составил $80,1 \pm 26,7\%$, у взрослых – $70,3 \pm 22,6\%$, частота инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* - 42,4%. У 19% пациентов из Республики Башкортостан установлен «мягкий» фенотип, 81,0% - «тяжелый» фенотип, ранняя манифестация заболевания сопровождается тяжелым течением с ранним инфицированием органов дыхания и развитием осложнений, степень тяжести течения кистозного фиброза коррелирует с классом патогенности выявленных мутаций.
3. Молекулярный дефект заболевания идентифицирован в 96,12% семей. Выявлены 35 патогенных вариантов в гене *CFTR* у 124 из 129 пациентов, у 5 пациентов – по 1 мутации. 13 мутаций встречались с частотой более 1%, 22 мутации - с частотой менее 1%, 79% семей гомозиготные или компаунд-гетерозиготные по варианту F508del, частота комплексного аллеля L467F- F508del составила 8,11%.
4. Выявлена генетическая гетерогенность МВ по спектру и частотам патогенных изменений в гене *CFTR* в этнических группах РБ, мутации 3849+10kbC->T, p.[G509D;E217G] - специфичны для пациентов татарской и башкирской этнической принадлежности, 394delTT и p.[S466X;R1070Q] - для татар.
5. Оптимизирован алгоритм ДНК-диагностики МВ на основе анализа 15 мутаций в гене *CFTR*: F508del, E92K, 3849+10kbC->T, CFTRdele2-3, L138ins, N1303K, 394delTT, S1196X, p. [S466X; R1070Q], p.[G509D; E217G], 2143delT, Y84X, W1282X, G194R, 1525-1G>A и c.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F), 44 детям назначена таргетная терапия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение алгоритма молекулярной диагностики МВ на основе региональных особенностей распределения спектра и частот мутаций в гене *CFTR* для подтверждающей ДНК-диагностики МВ у детей из группы риска по результатам неонатального скрининга.

2. Рекомендуется определение гетерозиготного носительства мутаций в гене CFTR в районах Республики Башкортостан с высоким уровнем заболеваемости муковисцидозом.
3. Проведение медико-генетического консультирования при планировании беременности гетерозиготными носителями мутаций в гене CFTR из отягощенных семей с определением частых мутаций, характерных для региона, у второго родителя.
4. Рекомендуется внесение данных ДНК-диагностики в информационно-аналитическую систему Республики Башкортостан и в региональный регистр муковисцидоза для проведения мониторинга и прогнозирования течения заболевания с учетом мутационного профиля пациентов.
5. Использование результатов исследования для назначения CFTR-модуляторов и проведения пренатальной ДНК-диагностики в отягощенных семьях.
6. Внедрение результатов проведенного исследования с разъяснением алгоритма молекулярной диагностики муковисцидоза в образовательную программу студентов и клинических ординаторов Башкирского государственного медицинского университета.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МВ - муковисцидоз	WHO - Всемирная организация здравоохранения
CFTR - ген муковисцидозного трансмембранного регулятора	ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России - «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
РФ - Российская Федерация	ГБУЗ РКБ им Г.Г. Куватова - Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова
ERS/ATS - American Thoracic Society и European Respiratory Society	ГБУЗ РДКБ - Республиканская детская клиническая больница
РБ - Республика Башкортостан	ГБУЗ РМГЦ - Республиканский медико-генетический центр
MLPA-Мультиплексная амплификация лигированных зондов	NGS - секвенирование нового поколения
ИМТ - индекс массы тела	
ИРТ - иммунореактивный трипсин	
КТ - компьютерная томография	

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Аюпова Г.Р.** Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования / Аюпова Г.Р., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. // Разработка алгоритмов диагностики и лечения муковисцидоза в Республике Башкортостан. Сборник статей по материалам LI Международной научно-практической конференции. - 2021. – Т. 47. - №8. - С. 62 - 72.
2. **Аюпова Г.Р.** Проблемы и достижения в изучении клинико-генетических аспектов муковисцидоза / Аюпова Г.Р., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. // Казанский медицинский журнал. - 2022. - Т. 103. - № 4. - С. 628 - 640. doi: 10.17816/KMJ2022-628
3. **Аюпова Г.Р.** Муковисцидоз: современные возможности диагностики и лечения на основе молекулярного патогенеза /Аюпова Г.Р., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. //

Медицинская генетика. – 2022. – Т. 21. - № 9. - С. 22 - 27. doi: 10.25557/2073-7998.2022.09.22-27

4. **Аюпова Г.Р.** Муковисцидоз: диагностика и лечение на основе молекулярного патогенеза / Аюпова Г.Р., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. // Естественные и технические науки. - 2022. - Т. 9. - № 172. - С. 60 - 70. doi: 10.25633/ETN.2022.09.06

5. **Аюпова Г.Р.** Медико-генетическое консультирование пациентов с муковисцидозом в Республике Башкортостан. / Г.Р. Аюпова, Р.И. Хусаинова, И.Р. Миннихметов // Трансляционная медицина. - 2022. - С. 176.

6. **Аюпова Г.Р.** Персонализированный подход при медико-генетическом консультировании пациентов с муковисцидозом в Республике Башкортостан / Г.Р. Аюпова, Р.И. Хусаинова, И.Р. Миннихметов // III Всероссийская конференция «Высокопроизводительное секвенирование в геномике» - 2022. - С. 90 - 91.

7. **Аюпова Г.Р.** Клинико-генетическая характеристика муковисцидоза в Республике Башкортостан / Аюпова Г. Р., Хусаинова Р. И. // Научные результаты биомедицинских исследований. - 2023. – Т. – 9. - № - 4. – С. 474-485. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-4-0-4

8. **Аюпова Г.Р.** Проблемы ранней диагностики муковисцидоза/ Аюпова Г.Р., Аглетдинов Э.Ф., Хусаинова Р.И. // Естественные и технические науки. - 2023. - № 1(188). - С. 166-173. doi: 10.25633/ETN.2022.09.06

9. Ayupova G. Population Characteristics of the Spectrum and Frequencies of CFTR Gene Mutations in Patients with Cystic Fibrosis from the Republic of Bashkortostan (Russia) / Ayupova G., Litvinov S., Akhmetova V., Minniakhmetov I., Mokrysheva N., Khusainova R. // Genes 2024, 15, 1335. <https://doi.org/10.3390/genes15101335>

РЕЗЮМЕ

кандидатской диссертации Аюповой Гузель Рамилевны «Эпидемиологические, клинико-генетические аспекты муковисцидоза в Республике Башкортостан»

В представленной работе впервые проанализированы клинико-лабораторные данные пациентов с МВ из РБ за период наблюдения с 1998 по 2023 гг., результаты неонатального скрининга на МВ за период с 2006 по 2023 гг., проведена подтверждающая ДНК-диагностика МВ у пациентов и членов их семей, описаны генно-фенотипические корреляции, по результатам ДНК-диагностики пациентам детского возраста впервые назначена эффективная таргетная терапия. Выявлено 35 вариантов в гене *CFTR*. У 96,12% семей выявлены обе мутации. Генетическая гетерогенность по частоте и спектру мутаций выявлена у пациентов разной этнической принадлежности, проживающих в РБ. Мутации G551D, 621+1G>T, W19G, S737F, 1717-1G>A, 1367del5, W1282R, 3821delT, c.2353C>T выявлены только у пациентов русского происхождения; мутации 394delTT, S466X (C>G) R1070Q, G194R, G509D, L1335P, R117C, D1152H, W1310X, 2184insA и 3041-15T>G обнаружены только на хромосомах татарского происхождения; а мутация 12TG5T обнаружена только у пациента башкирского

происхождения. Ранее неописанная мутация c.3883_3888dup (p.Ile295_Phe1296dup) обнаружена на хромосоме польского происхождения.

В отягощенных семьях выявлены 6 гетерозиготных носителей вариантов в гене *CFTR*. Проведена прегравидарная диагностика у 29 беременных из группы риска по МВ, внутриутробно МВ диагностирован в 4х случаях. Таким образом, идентифицирован полный спектр мутаций в гене *CFTR* у больных МВ из РБ, определена генетическая специфика региона, оптимизирован алгоритм подтверждающей ДНК-диагностики, что необходимо для ранней и своевременной диагностики МВ у пациентов и является залогом успешности терапии и профилактирования заболевания.

SUMMARY

of the dissertation «Epidemiologic, clinical and genetic aspects of cystic fibrosis in the Republic of Bashkortostan» by Aiupova Guzel Ramilevna

The study was the first to analyze clinical and laboratory data of patients with CF from the RB during the observation period from 1998 to 2023, the results of newborn screening for CF for the period from 2006 to 2023, confirmatory DNA diagnosis of CF was carried out in patients and members their families, gene-phenotypic correlations are described, and effective targeted therapy was prescribed to pediatric patients for the first time. 35 variants in the *CFTR* gene have been identified. Both mutations were detected in 96.12% of families. Genetic heterogeneity in the frequency and spectrum of mutations was revealed in patients of different ethnicities living in the RB. Mutations G551D, 621+1G>T, W19G, S737F, 1717-1G>A, 1367del5, W1282R, 3821delT, c.2353C>T were detected only in patients of Russian origin; mutations 394delTT, S466X (C>G) R1070Q, G194R, G509D, L1335P, R117C, D1152H, W1310X, 2184insA and 3041-15T>G were found only on chromosomes of Tatar origin; and the 12TG5T mutation was found only in a patient of Bashkir origin. A previously undescribed mutation c.3883_3888dup (p.Ile295_Phe1296dup) was found on a chromosome of Polish origin.

In burdened families, 6 heterozygous carriers of variants in the *CFTR* gene were identified. Pre-gravidar diagnosis was performed in 29 pregnant women at risk for CF, intrauterine CF was diagnosed in 4 cases. Thus, the full range of mutations in the *CFTR* gene in CF patients from the RB has been identified, the genetic specificity of the region has been determined, and the algorithm of confirmatory DNA diagnostics has been optimized, which is necessary for early and timely diagnosis of CF in patients and is the key to the success of therapy and prevention of the disease.