



# Генетика муковисцидоза

# Муковисцидоз

## # 219700. CYSTIC FIBROSIS; CF

Локализация	Фенотип	Фенотип номер МИМ	Наследование	Ключ для картирования фенотипа	локус	Номер мим гена / локуса
<a href="#">1q23.3</a>	Синегнойная палочка, восприимчивость к хронической инфекции, при муковисцидозе	<a href="#">219700</a>	AR	3	FCGR2A	<a href="#">146790</a>
<a href="#">7q31.2</a>	Кистозный фиброз	<a href="#">219700</a>	AR	3	CFTR	<a href="#">602421</a>
<a href="#">19q13.2</a>	Муковисцидоз заболевание легких, модификатор	<a href="#">219700</a>	AR	3	TGFB1	<a href="#">190180</a>

Знак числа ( # ) используется с этой записью, потому что муковисцидоз вызван гомозиготной или сложной гетерозиготной мутацией в гене регулятора проводимости муковисцидоза (CFTR; [602421](#)) на хромосоме 7q31.

**Клинический  
фенотип  
муковисцидоза**

**триада**

Повышение  
концентрации натрия  
и хлорида в поте

Экзокринная  
панкреатическая  
недостаточность

Хроническая обструктивная  
болезнь легких (ХОБЛ)

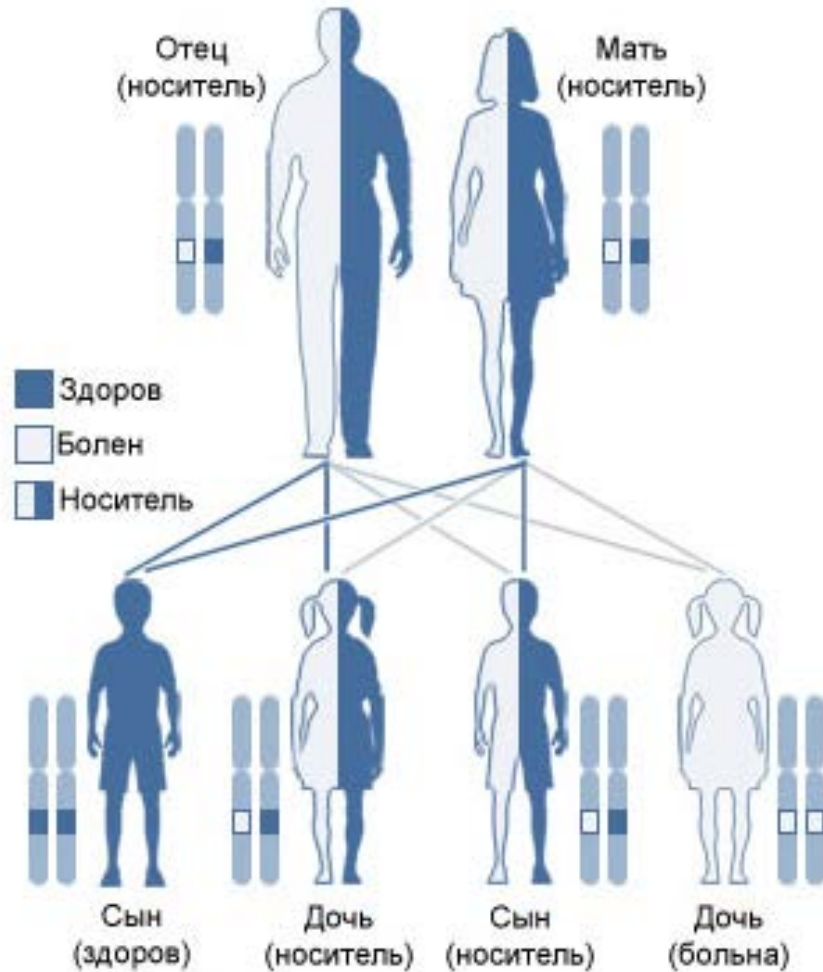
**Почти все мужчины с муковисцидозом бесплодны вследствие врожденного двустороннего отсутствия семявыносящего протока.**

Частота – 1:2-2500 новорожденных в среднем в странах Европы и Северной Америки.

Частота в Российской Федерации – 1: 7000 новорожденных.

# Тип и риск наследования муковисцидоза

## Аутосомно-рецессивное наследование



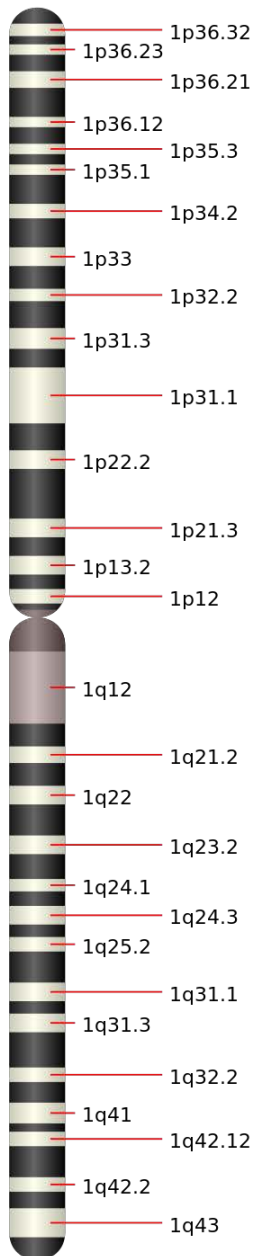
У супружеской пары,  
носителей мутаций гена *CFTR*,  
вероятность рождения ребенка:

здорового – 25%

больного – 25%

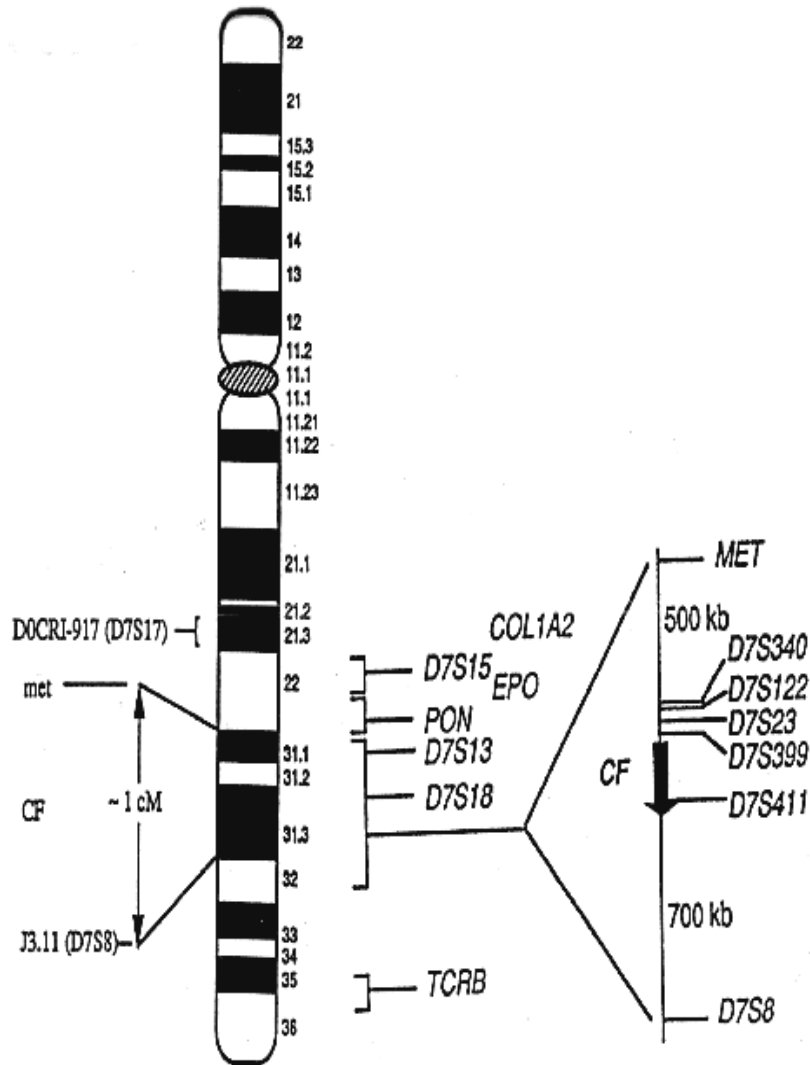
носителя заболевания – 50%

# Ген FCGR2A (Fc-фрагмент рецептора IgG IIa)



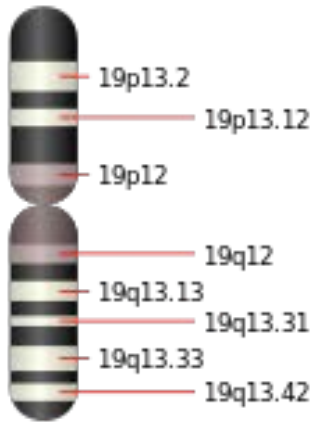
- ✓ Мутации гена FCGR2A обеспечивают восприимчивость к синегнойной инфекции и хронизации инфекционного процесса при муковисцидозе
- ✓ Локализован на длинном плече хромосомы 1 (1q23.3)
- ✓ Экспрессирован на поверхности клеток иммунного ответа: макрофаги, нейтрофилы, моноциты, гранулоциты, эозинофилы, В-лимфоциты

Ген CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – цистинового фиброза регулятор трансмембранной проницаемости)



- ✓ Мутации гена CFTR приводят к развитию муковисцидоза
- ✓ Локализован на длинном плече хромосомы 7 (7q31.2)

# Ген TGFB1 (Трансформирующий фактор роста, бета-1)

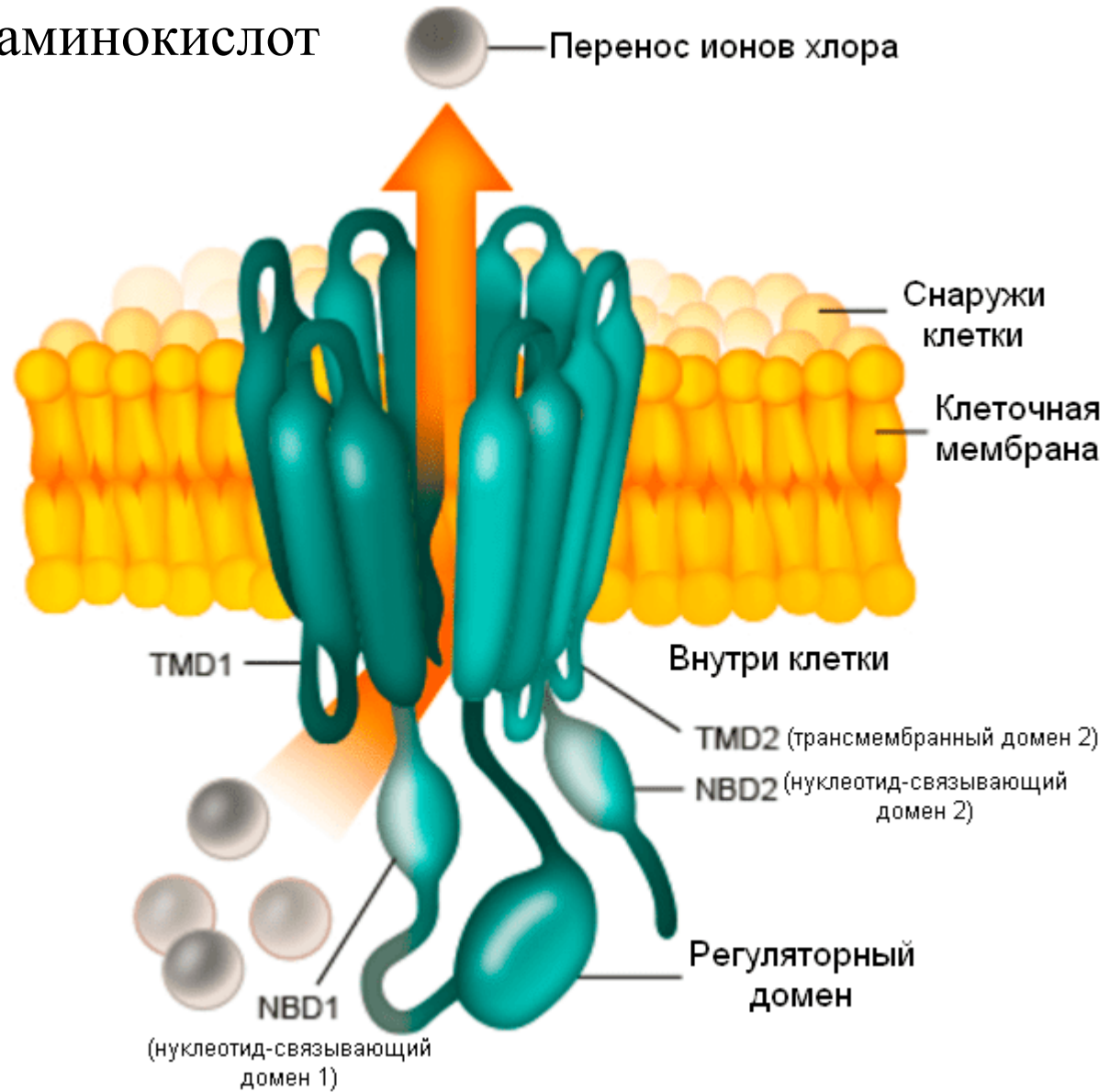


- ✓ Однонокулеотидная замена С29Т в гене TGFB1 приводит к замене Лей10Про это приводит к более раннему заражению первой легочной инфекцией и более тяжелому течению инфекционного процесса
- ✓ Локализован на длинном плече хромосомы 19 (19q13)
- ✓ Экспрессирован на поверхности клеток иммунного ответа: макрофаги, нейтрофилы, моноциты, гранулоциты, эозинофилы, В-лимфоциты

# Белок CFTR, строение и функции

Ген CFTR (найден в 1989 г.) кодирует белок ионного канала

Белок состоит из 1480 аминокислот





# Патогенез муковисцидоза

Поверхностный реснитчатый эпителий легких покрыт слоем геля – **ASL** (*airway surface liquid, легочный сурфактант*).

**ASL** состоит из белков (преимущественно *муцинов*) и **ДНК** в солевом растворе.

В норме, во время дыхания, толщина **ASL** равна 25 мкм.

У больных муковисцидозом толщина **ASL** сокращается до 3 мкм, и реснички при этом не работают в полную силу.

Но в ответ на механический стресс многие клетки альвеол, в том числе эпителиальные, выделяют АТФ и получают дополнительную стимуляцию – **ASL** увеличивается до 7 мкм.

Поэтому постукивание по грудной клетке является эффективным способом помощи от удушья при муковисцидозе.

[Источник: Mark T. Clunes, Richard C. Boucher. (2007). [Cystic fibrosis: the mechanisms of pathogenesis of an inherited lung disorder](#). *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 4, 63-72]

# Классификация мутаций гена *CFTR* по первичному повреждающему эффекту

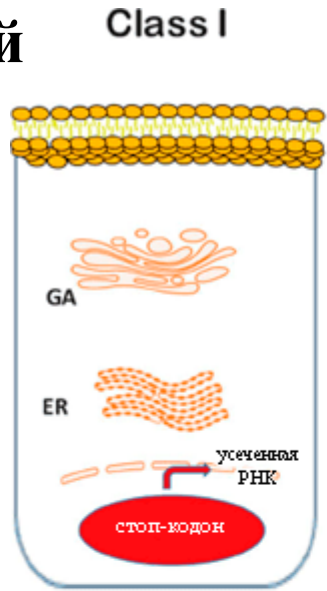
**I класс:**  
заблокирован синтез белка

**II класс:**  
нарушено созревание белка

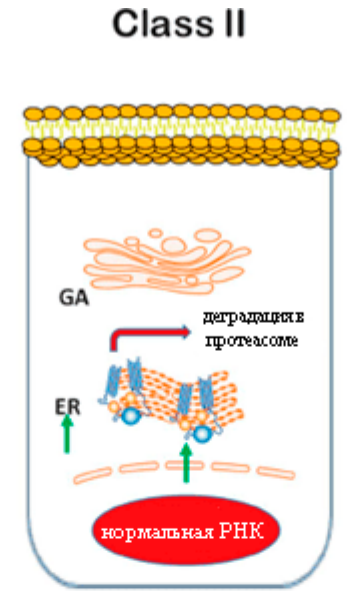
**III класс:**  
нарушение регуляции белка

**IV класс:**  
снижение проводимости канала

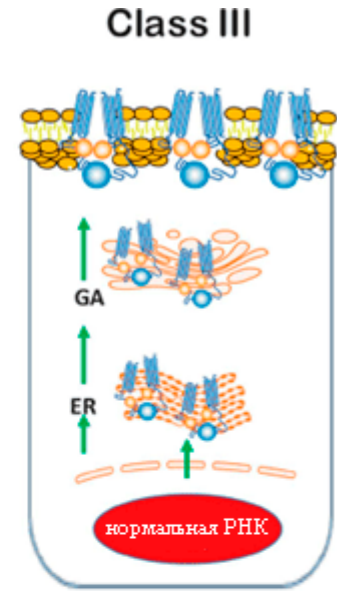
**V класс:**  
уменьшение синтеза нормального белка



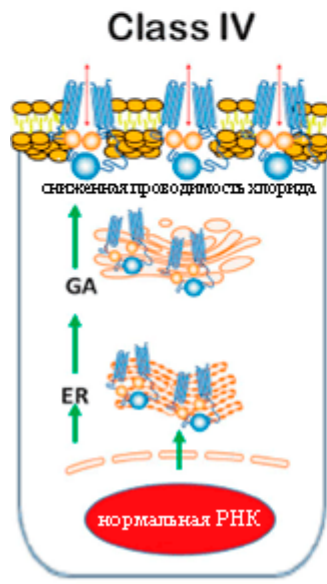
**не идет синтез**



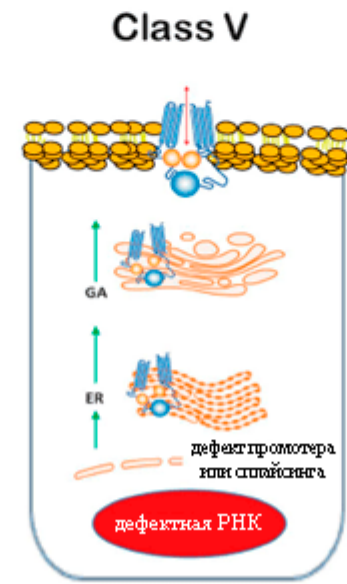
**дефект процессинга**



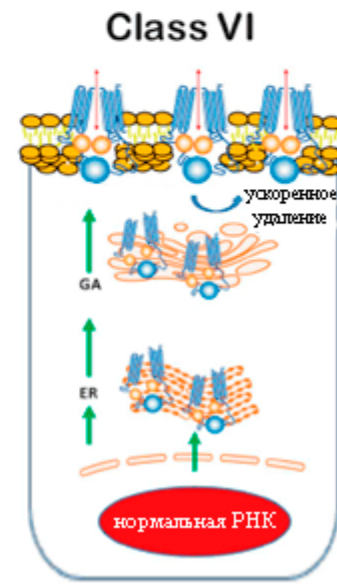
**дефект открытия**



**низкая проводимость**



**недостаточный синтез**



**ускоренное удаление**

**низкая проводимость недостаточный синтез ускоренное удаление**

Источник: Luigi Maiuri, Valeria Raia, Guido Kroemer. (2017). [Strategies for the etiological therapy of cystic fibrosis](#). *Cell Death Differ.* 24, 1825-1844;

# Номенклатура мутаций при муковисцидозе

Для обозначения мутации в кодирующей области

Традиционная	По положению в кодирующей последовательности	По положению в молекуле белка
delF508	c.1520_1522delTCT	p.Phe508del
W1282X	c.3846G>A	p.Trp1282X
E92K	c.274G>A	p.Glu92Lys

c. – coding sequence (кодирующая последовательность)

p. – protein sequence (аминокислотная последовательность)

Phe – фенилаланин

TRP – триптофан

Glu – глутамин

Lys – лизин

Например: c.3846G>A

замена гуанина на аденин в 3846-ом положении

нуклеотидной последовательности

# Мутации в гене CFTR

1. Нонсенс – мутации
2. Мутации со сдвигом рамки считывания
3. Мутации без сдвига рамки считывания
4. Миссенс-мутации
5. Мутации сайта сплайсинга
6. Протяженные делеции/инсерции гена
7. Полиморфизм

## 1. Нонсенс-мутации при муковисцидозе

Однонуклеотидные замены, приводящие к возникновению преждевременного терминирующего кодона

Традиционное название	По положению в кодирующей последовательности	По положению в молекуле белка	Экзон
W1282X	c.3846G>A	p.Trp1282X	23
E92X	c.274G>T	p.Glu92X	4
R75X	c.223C>T	p.Arg75X	3

Нонсенс – мутации приводят к остановке синтеза-полипептидной цепи и образованию неполноценного белка

Как правило, эти мутации относятся к 1 классу первичного повреждающего эффекта и являются «тяжелыми»

# Мутации I класса

Мутации I класса встречаются примерно у 10% пациентов.

При них белок CFTR вообще не синтезируется или синтезируется в усеченном виде и сразу деградирует, потому что в гене произошла замена кодирующего аминокислоту кодона на стоп-кодон, или сдвиг рамки считывания, или появился сигнал неправильного сплайсинга. Самая частая мутация — замена глицина-542 на стоп-кодон.

## 2-3. Мутации со сдвигом рамки считывания и мутации без сдвига рамки считывания при муковисцидозе

2. со сдвигом рамки считывания	3. без сдвига рамки считывания
<p>c.174_175insA (p.Arg59LysfsX10)</p> <p>c.247_248insT (p.Tyr84LeufsX27)</p> <p>c.3691delT (p.Ser1231ProfsX4)</p>	<p>p.Phe508del (c.1521_1523delCTT)</p> <p>p.Ile507del (c.1519_1521delATC)</p> <p>L138ins (c.412_413insACT)</p> <p>p.Leu1261del (c.3780_3782delACT)</p>
<p>«Тяжелые» мутации приводят к образованию белка с измененной аминокислотной последовательностью. Преимущественно, 1 класс мутаций.</p>	<p>Влияние мутаций определяется ее положением, а также вовлеченностью потерянного участка аминокислотной последовательности в созревание полноценного белка или активный центр белковой молекулы</p>

## Мутации II класса

Наиболее распространены и приводят к дефектному фолдингу (белок неправильно сворачивается, и еще в эндоплазматическом ретикулуме не проходит «контроль качества» со стороны клеточных систем и направляется на деградацию, не доходя до плазматической мембраны).

Самая частая мутация — **F508del (F=Phe – фенилаланин)**.

70% пациентов гомозиготны по этой мутации, а у 90% есть хотя бы один мутантный аллель. У гомозигот наблюдается тяжелое течение муковисцидоза. Гетерозиготы по CFTR-F508del не имеют симптомов болезни.

Стабильность присутствия такого тяжелого заболевания в человеческой популяции видимо обусловлена тем, что у гетерозигот в меньшей степени происходит потеря воды при болезнях, сопровождающихся диареей, например, при холере и брюшном тифе, поэтому, когда эти болезни были одной из основных причин смертности, особенно детской, шел отбор на дефектные копии гена.



## Мутации III класса

Встречаются у 4–5% пациентов и приводят к неправильной регуляции открытия ионного канала.

Из них наиболее обычная — **Gli551Asp**. Она приводит к тому, что канал остается преимущественно закрытым.

Появление в этом положении остатка аспарагиновой кислоты с отрицательно заряженной боковой цепью — $\text{CH}_2\text{COO}^-$  препятствует связыванию АТФ и сближению доменов NBD1 и NBD2 из-за отталкивания отрицательных зарядов между аспартатом и фосфатными группами АТФ, а также кислотными остатками домена NBD2.

#### 4. Миссенс-мутации при муковисцидозе (однонуклеотидные мутации, приводящие к замене аминокислоты в белке)

Традиционное название	По положению в кодирующей последовательности	По положению в молекуле белка	Экзон
R334W	c.1000C>T	p.Arg334Trp	8
R352Q	c.1055G>A	p.Arg352Gln	8
G480C	c.1438G>T	p.Gly480Cys	11

Как правило, миссенс-мутации имеют «мягкое» проявление и относятся к 4 классу мутаций

## Мутации IV и других классов

Довольно редкие мутации класса IV (в сумме 1,7% пациентов) приводят к уменьшению прохождения ионов хлора через открытый канал CFTR.

Как правило, это замены положительно заряженных остатков аргинина в канале на незаряженные остатки. По-видимому, наличие положительных зарядов в канале необходимо для прохождения через него ионов  $Cl^-$ . Для больных с этими мутациями характерно довольно легкое течение болезни, зачастую без легочных и панкреатических проявлений.

Некоторые исследователи различают также мутации классов V–VI, при которых производится работающий белок, но в недостаточных количествах, или происходит быстрое удаление CFTR с поверхности клеток. У таких пациентов течение болезни также сравнительно легкое.

## 5. Сплайсинговые мутации при муковисцидозе

Сплайсинг – процесс вырезания интронов из молекул про-РНК

Традиционное название	По положению в кодирующей последовательности	По положению в молекуле белка	Экзон/ Инtron
3849+10kb C/T	c.3717+12191C>T	-	22 интрон
3850- 1G- >A	c.3718-1G>A	-	22 интрон

Нарушают вырезание интронов из первичного транскрипта мРНК во време сплайсинга

Сплайсинговые мутации снижают количество нормальных траскриптов в клетке

Сплайсинговые мутации, как правило, имеют «мягкое» проявление и относятся к 5 классу мутаций

## 6. Протяженные делеции/инсерции при муковисцидозе

Делеции/инсерции, захватывающие несколько экзонов

В большинстве случаев это тяжелые мутации

Обычное секвенирование экзонов не выявляет протяженные перестройки гена

Для установления используют метод MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)

## 7. Полиморфизм гена CFTR при муковисцидозе

Под полиморфизмом (или полиморфными вариантами) понимают генетические изменения, не оказывающие существенного влияния на функции гена.

273+165delA	Инtron 4
869 +11C/T	Инtron 7
Met470Val	Экзон 11
1766-136 T/C	Инtron 13

# Современное лечение муковисцидоза

## Трикафта (Кафтриа)

### **Комбинированный препарат:**

элексакафтор – ивакафтор – тезакафтор

Средство предназначено для пациентов старше 12 лет с хотя бы одной мутацией F508del гена трансмембранного регулятора муковисцидоза (CFTR).

**Ивакафтор** – CFTR-потенциатор, увеличивающий вероятность открытия ионного канала CFTR (не работает при мутации F508del!).

**Тезакафтор** – усиливает конформационную стабильность F508del мутантного CFTR-белка, обеспечивая его процессинг и миграцию в клеточную мембрану, что дает возможность Ивакафтору реализовать фармакодинамический эффект.

**Элексакафтор** – модулятор CFTR-белка, увеличивающий содержание в клеточной мембране мутантной формы белка.

# Современное лечение муковисцидоза

## Безопасность и эффективность Трикафта

доказана в двух клинических исследованиях

AURORA F/MF (NCT03525444) и

AURORA F/F (NCT03525548)



(elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor  
and ivacaftor)

**100 mg/50 mg/75 mg and 150 mg tablets**



NDC 51167-331-01

Rx Only



(elexacaftor, tezacaftor and ivacaftor)  
100 mg, 50 mg and 75 mg;  
(ivacaftor) 150 mg tablets

84 Tablets

4-wallets (each containing 14 tablets of elexacaftor, tezacaftor, and ivacaftor and 7 tablets of ivacaftor)

LIFT HERE TO OPEN

### Instructions For Use

Recommended Dosage: See prescribing information

#### MORNING (2 Tablets)

Take 2 orange (elexacaftor, tezacaftor, and ivacaftor) tablets marked with "T100" or as directed by your healthcare provider.



#### EVENING (1 Tablet)

Take 1 light blue (ivacaftor) tablet marked with "V 150" or as directed by your healthcare provider.



For Oral Use. Swallow tablets whole with fat-containing food.

Store at 68°F to 77°F (20°C to 25°C); excursions permitted to 59°F to 86°F (15°C to 30°C) [see USP Controlled Room Temperature].

Manufactured for: Vertex Pharmaceuticals Incorporated, Boston, MA 02210

57E151



	DAY 1	DAY 2	DAY 3	DAY 4	DAY 5	DAY 6	DAY 7
<b>MORNING</b> 							
<b>EVENING</b> 							
	DAY 1	DAY 2	DAY 3	DAY 4	DAY 5	DAY 6	DAY 7

elexacaftor, tezacaftor, and ivacaftor 100 mg, 50 mg, and 75 mg per tablet

ivacaftor 150 mg per tablet

Recommended Dosage: See prescribing information

# Аналоги – предшественники



**ORKAMBI™**

(lumacaftor/ivacaftor)

200 mg / 125 mg tablets



**kalydeco**

**(ivacaftor)** tablets 150 mg  
oral granules 50•75 mg