



# 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)

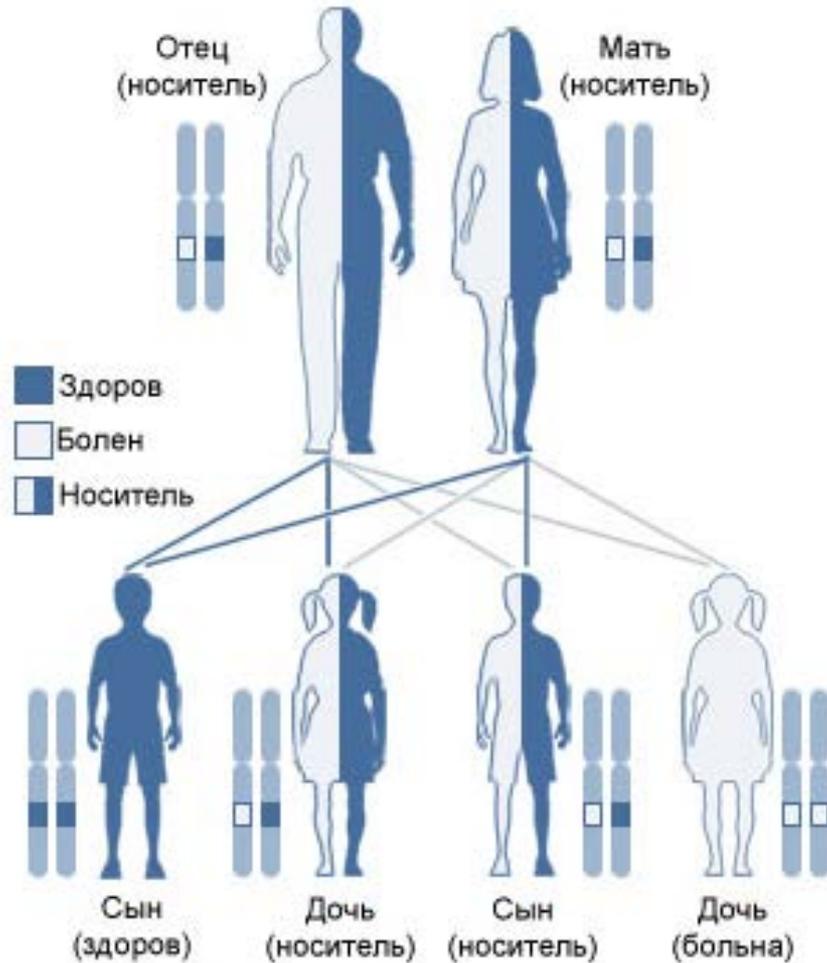
**Почти все мужчины с муковисцидозом бесплодны вследствие врожденного двустороннего отсутствия семявыносящего протока.**

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



U.S. National Library of Medicine

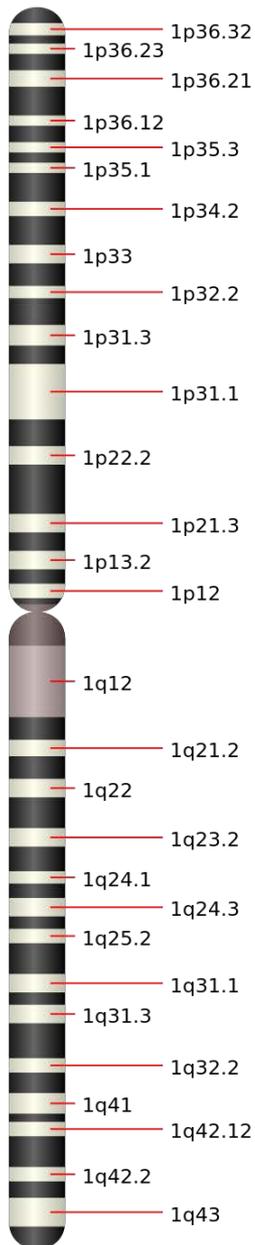
У супружеской пары, носителей мутаций гена *CFTR*, вероятность рождения ребенка:

здорового – 25%

больного – 25%

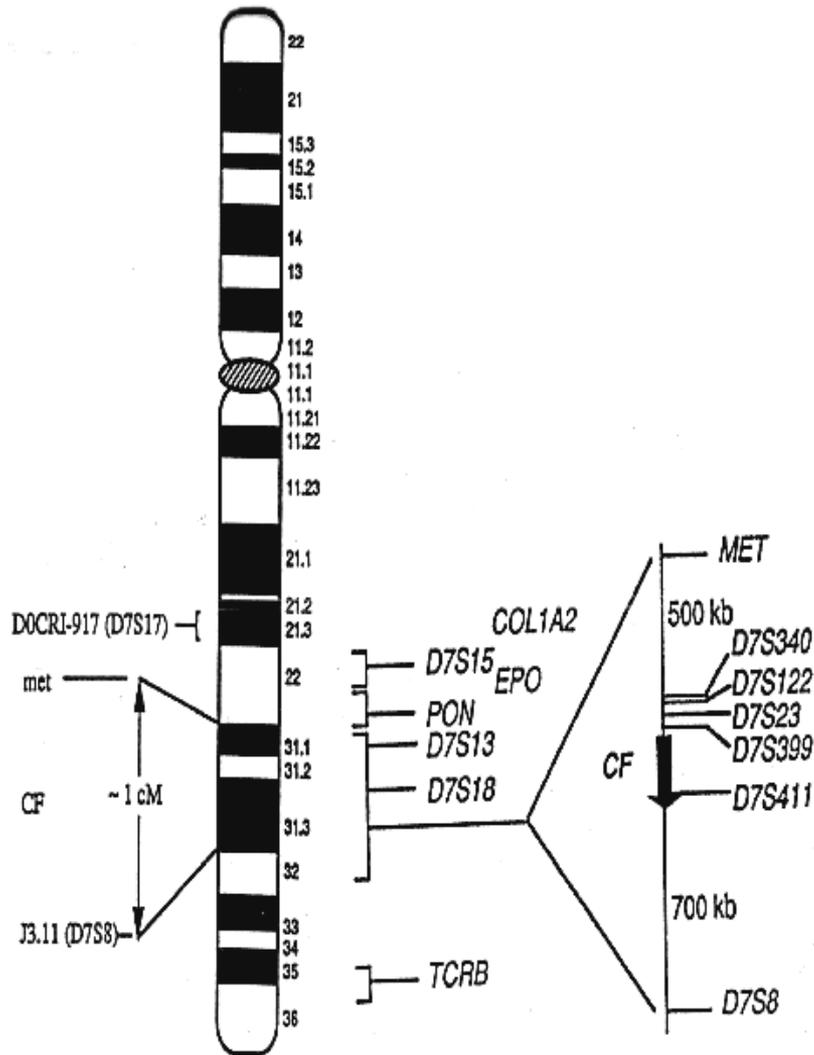
носителя заболевания – 50%

# Ген FCGR2A (Fc-фрагмент рецептора IgG IIa)



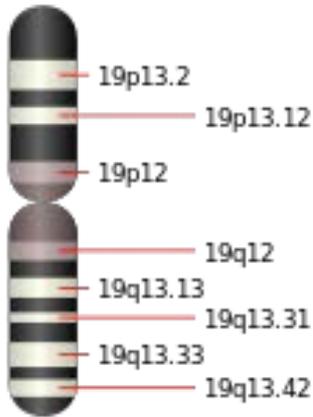
- ✓ Мутации гена FCGR2A обеспечивают восприимчивость к синегнойной инфекции и хронизации инфекционного процесса при муковисцидозе
- ✓ Локализован на длинном плече хромосомы 1 (1q23.3)
- ✓ Экспрессирован на поверхности клеток иммунного ответа: макрофаги, нейтрофилы, моноциты, гранулоциты, эозинофилы,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

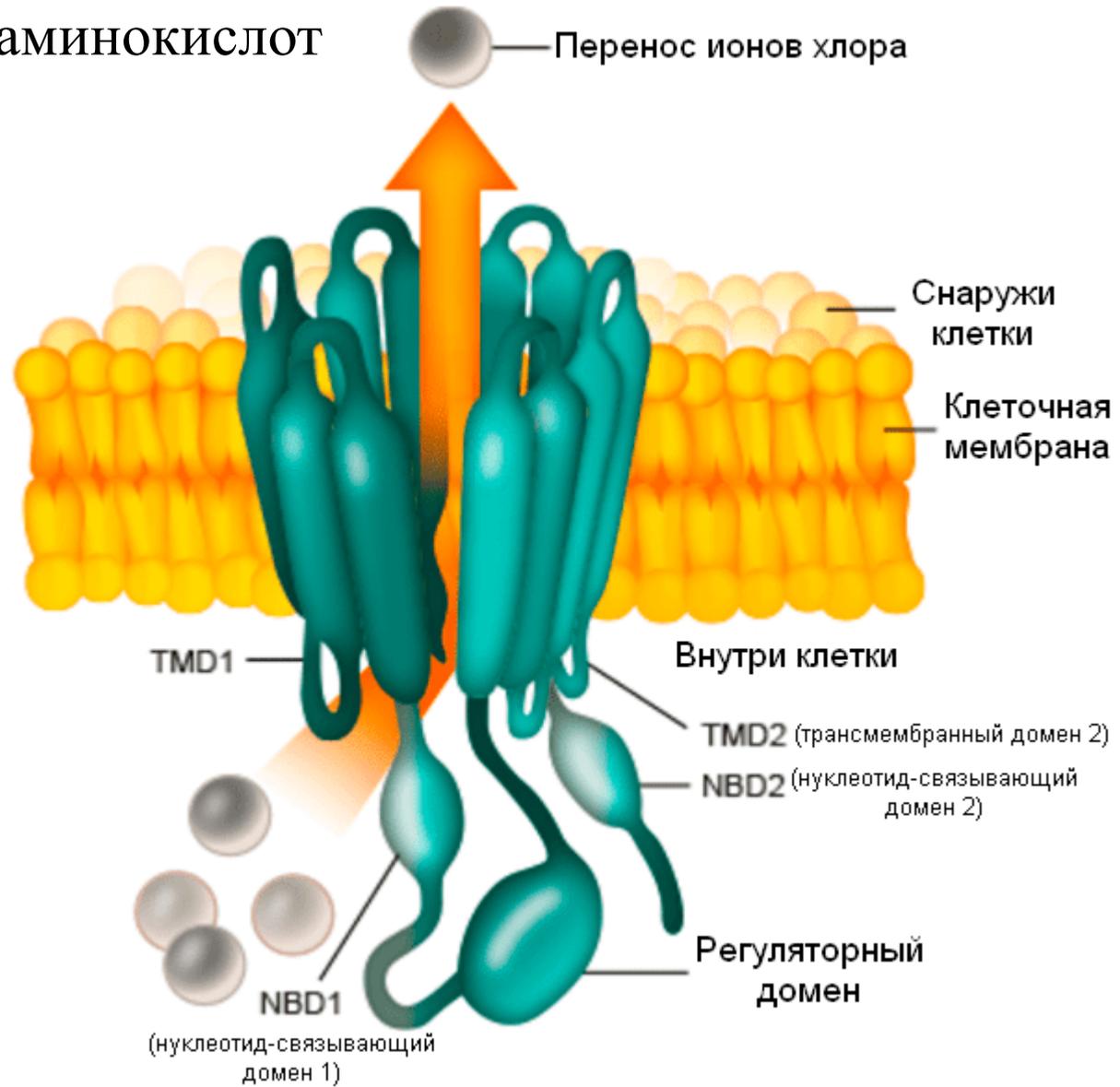


- ✓ Однонокулеотидная замена С29Т в гене TGFB1 приводит к замене Лей10Про это приводит к более раннему заражению первой легочной инфекцией и более тяжелому течению инфекционного процесса
- ✓ Локализован на длинном плече хромосомы 19 (19q13)
- ✓ Экспрессирован на поверхности клеток иммунного ответа: макрофаги,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

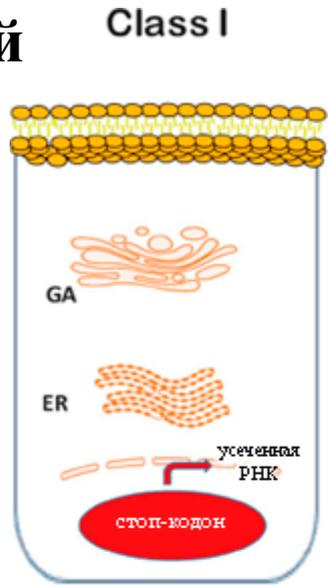
**I класс:**  
заблокирован синтез белка

**II класс:**  
нарушено созревание белка

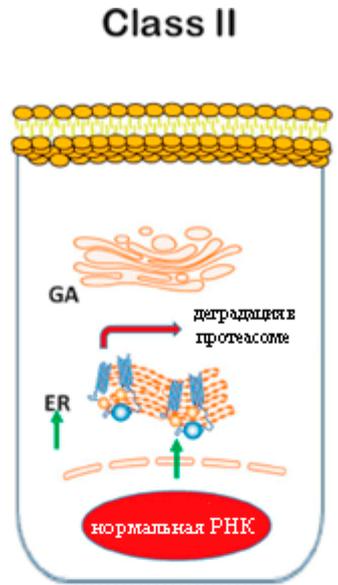
**III класс:**  
нарушение регуляции белка

**IV класс:**  
снижение проводимости канала

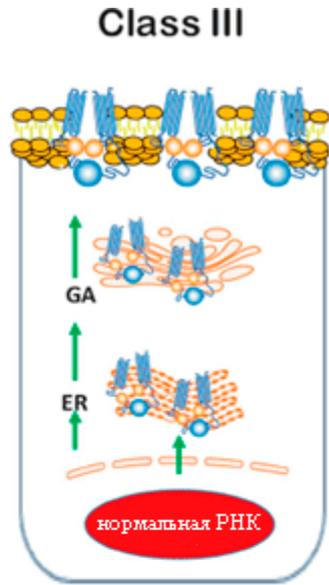
**V класс:**  
уменьшение синтеза нормального белка



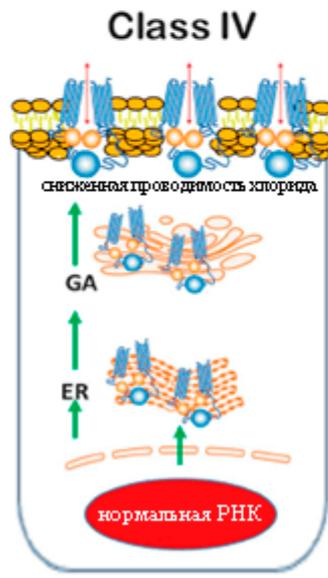
**не идет синтез**



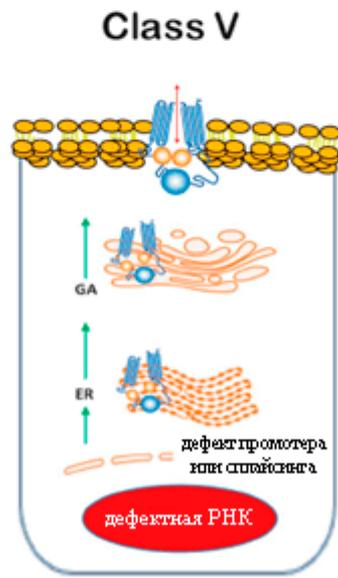
**дефект процессинга**



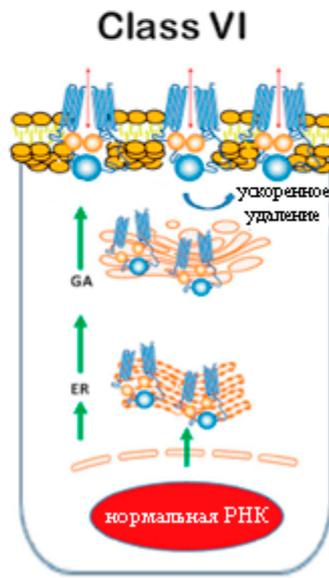
**дефект открытия**



**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<br/>(p.Arg59LysfsX10)</p> <p>c.247_248insT<br/>(p.Tyr84LeufsX27)</p> <p>c.3691delT (p.Ser1231ProfsX4)</p>               | <p>p.Phe508del<br/>(c.1521_1523delCTT)</p> <p>p.Ile507del (c.1519_1521delATC)</p> <p>L138ins (c.412_413insACT)</p> <p>p.Leu1261del<br/>(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 —CH<sub>2</sub>—COO<sup>-</sup> 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/<br>Интрон |
|-----------------------|--|-------------------------------|------------------|
| 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  | Интрон 4  |
| 869 +11C/T   | Интрон 7  |
| Met470Val    | Экзон 11  |
| 1766-136 T/C | Интрон 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)



trikafta™

(elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor  
and ivacaftor)

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

NDC 51167-331-01

Rx Only

**trikafta™**

(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><br> |       |       |       |       |       |       |       |
|                    |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>EVENING</b><br> |       |       |       |       |       |       |       |
|                    |       |       |       |       |       |       |       |
|                    | 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