

Н.В. Петрова<sup>1</sup>, Н.Ю. Каширская<sup>1</sup>, Т.А. Васильева<sup>1</sup>, А.Ю. Воронкова<sup>1</sup>,  
Е.И. Кондратьева<sup>1</sup>, В.Д. Шерман<sup>1</sup>, О.Г. Новоселова<sup>1</sup>, С.А. Красовский<sup>2</sup>, А.В. Черняк<sup>2</sup>,  
Е.Л. Амелина<sup>2</sup>, Е.К. Гинтер<sup>1,3</sup>, С.И. Куцев<sup>1</sup>, Р.А. Зинченко<sup>1,4</sup>

## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ С МУТАЦИЕЙ L138ins (p.Leu138dup)

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», <sup>2</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии»  
ФМБА России, <sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального  
образования» МЗ РФ, <sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, Москва, РФ



По данным Российского регистра больных муковисцидозом (МВ) 2013–2015 гг., мутацию с.411\_412insСТА (p.Leu138dup, L138ins) можно отнести к частым у российских пациентов (0,95%). Цель исследования – выявление фенотипического проявления у больных МВ из России, несущих мутацию L138ins. Материалы и методы исследования: для оценки клинической тяжести мутации L138ins проанализированы данные Российского регистра больных МВ за 2014–2015 гг. Исследование фенотипических взаимосвязей проведено при сравнении 3 групп больных МВ, имеющих разные генотипы: L138ins/F508del (35 человек), F508del/F508del (524 человека) и 3849+10kbC>T/F508del (49 человек). Результаты: по сравнению с гомозиготами по мутации F508del больные с генотипом L138ins/F508del характеризовались более поздним возрастом при установлении диагноза в период до начала неонатального скрининга (НС), достоверно более низкими значениями потовой пробы, чаще имели сохранную экзокринную функцию поджелудочной железы и, соответственно, лучшие показатели нутритивного статуса. У пациентов с генотипом L138ins/F508del присоединение хронической инфекции *P. aeruginosa* отмечалось позже и встречалось с меньшей частотой. Среди осложнений не отмечался мекониевый илеус и муковисцидоз-ассоциированный сахарный диабет, а тяжелые поражения печени выявлялись гораздо реже, чем у гомозигот по мутации F508del. По сравнению с пациентами с генотипом 3849+10kbC>T/F508del больным с генотипом L138ins/F508del раньше устанавливался диагноз при программе НС, что, возможно, обусловлено более высокими показателями потовой пробы. Доля больных с сохранной функцией поджелудочной железы была высока и достоверно не отличалась по группам, но при генотипе L138ins/F508del нутритивный статус взрослых больных был значительно лучше. Показатель ОФВ<sub>1</sub> был выше при последнем осмотре, а хроническая синегнойная инфекция встречалась реже у пациентов с генотипом L138ins/F508del. Заключение: таким образом, мутация L138ins (p.Leu138dup) может рассматриваться как клинически значимая с варибельным, но с относительно мягким клиническим течением МВ.

**Ключевые слова:** муковисцидоз, регистр, мутация L138ins (p.Leu138dup), генотип, фенотип, потовая проба, функция легких.

**Цит.:** Н.В. Петрова, Н.Ю. Каширская, Т.А. Васильева, А.Ю. Воронкова, Е.И. Кондратьева, В.Д. Шерман, О.Г. Новоселова, С.А. Красовский, А.В. Черняк, Е.Л. Амелина, Е.К. Гинтер, С.И. Куцев, Р.А. Зинченко. Фенотипические особенности у больных муковисцидозом с мутацией L138ins (p.Leu138dup). Педиатрия. 2017; 96 (6): 64–72.

### Контактная информация:

**Петрова Ника Валентиновна** – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»  
**Адрес:** Россия, 115478, г. Москва, ул. Москворечье, 1  
**Тел.:** (499) 320-60-90, **E-mail:** npetrova63@mail.ru  
Статья поступила 16.05.17, принята к печати 6.03.17.

### Contact Information:

**Petrova Nika Valentinovna** – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of the Genetic Epidemiology Laboratory, Research Centre of Medical Genetics  
**Address:** Russia, 115478, Moscow, Moskvorechye str., 1  
**Tel.:** (499) 320-60-90, **E-mail:** npetrova63@mail.ru  
Received on May 16, 2017, submitted for publication on Mar. 6, 2017.

## PHENOTYPIC FEATURES IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS WITH L138ins (p.Leu138dup) MUTATION

<sup>1</sup>Research Centre of Medical Genetics; <sup>2</sup>Scientific Research Institute of Pulmonology, Russian Federal Biomedical Agency; <sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; <sup>4</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

According to the Russian Register of Cystic Fibrosis (CF) patients 2013–2015, c.411\_412ins CTA (p.Leu138dup, L138ins) mutation can be considered frequent in Russian patients (0,95%). Objective of the research – to identify phenotypic manifestation in CF patients from Russia with L138ins mutation. Study materials and methods: for evaluation of L138ins mutation clinical severity, data of the Russian Register of CF patients 2014–2015 were analyzed. A study of phenotype-genotype relationships was performed by comparing 3 groups of CF patients with different genotypes: L138ins/F508del (35 patients), F508del/F508del (524 patients) and 3849+10kb C>T/F508del (49 patients). Results: compared to homozygotes based on F508del mutation, patients with L138ins/F508del genotype were characterized by a later age at the time of diagnosis before neonatal screening (NA), significantly lower indexes of swallow test, often had a preserved exocrine pancreatic function and better indicators of nutritional status. In patients with L138ins/F508del genotype the association of chronic *P. aeruginosa* infection was noted later and was less frequent. Among complications, there were no meconium ileus and cystic fibrosis associated diabetes mellitus, and severe liver lesion was diagnosed much less frequently than in homozygotes on F508del mutation. Compared to patients with the 3849+10kbC>T/F508del genotype, patients with L138ins/F508del genotype were diagnosed earlier, perhaps due to higher indexes of the sweat sample. The proportion of patients with preserved pancreatic function was high and did not differ significantly in groups, but in L138ins/508del genotype, the nutritional status of adult patients was significantly better. The FEV1 index was higher at the last examination, and chronic *Pseudomonas aeruginosa* was less common in patients with L138ins/F508del genotype. Conclusion: L138ins (p.Leu138dup) mutation can be considered clinically significant with a variable but relatively mild CF clinical course.

**Keywords:** cystic fibrosis, register, L138ins mutation (p.Leu138dup), genotype, phenotype, sweat test, lung function.

**Quote:** N.V. Petrova, N.Y. Kashirskaya, T.A. Vasilyeva, A.Y. Voronkova, E.I. Kondratieva, V.D. Sherman, O.G. Novoselova, S.A. Krasovskiy, A.V. Chernyak, E.L. Amelina, E.K. Ginter, S.I. Kutsev, R.A. Zinchenko. Phenotypic features in patients with cystic fibrosis with L138ins (p.Leu138dup) mutation. *Pediatrics*. 2017; 96 (6): 64–72.

Муковисцидоз (МВ; CF; OMIM #219700) – аутосомно-рецессивное заболевание, молекулярно-генетической причиной которого является мутация гена *CFTR* (OMIM \*602421). МВ характеризуется широким клиническим полиморфизмом от относительно легкого течения болезни с моносимптоматическими проявлениями до тяжелых мультиорганных поражений [1]. Различны и молекулярные механизмы, нарушающие функцию хлорного канала *CFTR* (выделяют 6 классов мутаций, приводящих к нарушению синтеза, созревания белка, встраивания белка в апикальную мембрану, нарушающих проводящие функции белка, уменьшающих количество функционирующего белка или времени жизни белка) [2–4]. Начиная с момента обнаружения широкого разнообразия патогенных мутаций в гене *CFTR*, многочисленные работы посвящены выявлению взаимосвязи между клиническими проявлениями заболевания и генотипом больного [2, 5, 6]. Показано, что различия тяжести

течения МВ могут быть объяснены в первую очередь разнообразием мутаций и генотипов больных МВ.

Частота МВ в европейских странах в среднем составляет 1 на 2500–4500 новорожденных, в РФ – 1 на 10 000 новорожденных [1]. Спектр и частоты мутаций в гене *CFTR* широко варьируют в разных популяциях и этнических группах. В последние десятилетия усилия исследователей были направлены на разработку методов лечения, учитывающих специфичность молекулярных последствий конкретных мутаций. Результатом явилось успешное испытание первого фармакогенетического препарата для лечения пациентов, несущих мутации, нарушающие проводимость ионного канала *CFTR* [7–9]. Таким образом, выявление всех мутаций, которые несут больные МВ, и определение их фенотипических проявлений могут способствовать оптимизации лечения и генетического консультирования в конкретных семьях.

Исследования последних лет определили спектр мутаций, характерный для пациентов из России [9–21]. По данным Российского регистра больных МВ 2013–2015 гг., мутацию с.411\_412insСТА (р.Leu138dup, L138ins) можно отнести к частым у российских пациентов – ее доля составляет 0,95% от общего числа идентифицированных мутантных аллелей, в разных регионах колеблясь от 0,5 до 1,5% [21]. Частота данной мутации за рубежом не определена в связи с редкостью встречаемости данного патологического аллеля в европейских популяциях [1]. В панели рутинно анализируемых мутаций в европейских странах мутация L138ins не включена.

Целью данного исследования является выявление особенностей фенотипических проявлений у больных МВ из России, несущих мутацию L138ins, что расширяет представление о клинических проявлениях МВ у пациентов с разными генотипами в гене *CFTR*.

### Материалы и методы исследования

Для оценки клинической тяжести мутации L138ins проанализированы данные Российского регистра больных МВ за 2014–2015 гг. (<http://mukoviscidoz.org/mukovistsidov-v-rossii.html>). Учитывали следующие показатели: возраст пациента при последнем осмотре, возраст постановки диагноза, показатель потового теста (хлориды, мМ/л), индекс массы тела (ИМТ, кг/м<sup>2</sup>), спирометрические показатели: объем форсированного выдоха в 1 с (ОФВ<sub>1</sub>, % от должного) и форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ, % от должного), хроническая колонизация бронхолегочной системы микроорганизмами (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, нетуберкулезные микобактерии, грамотрицательная микрофлора), панкреатическая недостаточность (фекальная эластаза 1 (<200 мг/г), нейтральный жир в копрограмме), осложнения (мекониевый илеус, цирроз печени (с/без портальной гипертензии), сахарный диабет, аллергический бронхолегочный аспергиллез и др.).

Исследование фенотипических взаимосвязей проведено при сравнении 3 групп больных МВ, имеющих разные генотипы: L138ins/F508del (35 человек), F508del/F508del (524 человека) и 3849+10kbC>T/F508del (49 человек). Обозначения мутаций приведены согласно традиционной номенклатуре.

Статистический анализ выполнен с использованием программы STATISTICA 8.0. Для сравнения категориальных переменных использовали тест Фишера, количественных – тест Манна–Уитни. Достоверным считали уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

В Российском регистре больных МВ за 2014–2015 гг. приведены сведения о 52 пациентах, несущих мутацию L138ins. Средний возраст пациентов на момент последнего обследования составил  $12,22 \pm 1,59$  лет (0,77–38,21). Соотношение

Таблица 1

### Генотипы и число обследованных пациентов

Генотип	Количество пациентов
L138ins/F508del	35
L138ins/2184insA	2
L138ins/CFTRdele2,3(21kb)	4
L138ins/W1282X	1
L138ins/S1196X	2
L138ins/K329X	1
L138ins/N1303K	3
L138ins/R1162X	1
L138ins/3359delCT	1
L138ins/не идентифицирован	3

по полу: 1М:1,7Ж. Средний возраст постановки диагноза составил  $6,48 \pm 1,39$  лет (0,09–35). У всех 52 пациентов мутация L138ins обнаружена в компаунде с другой мутацией в гене *CFTR*. Выявлено 9 разных генотипов, представленных в табл. 1. Наиболее частый генотип L138ins/F508del встретился у 35 больных МВ (67,31%), у 3 пациентов второй аллель остался неидентифицированным.

Исследование генофенотипических взаимосвязей проводили в наиболее многочисленной группе пациентов-носителей мутации L138ins (гетерозиготные компаунды – L138ins/F508del – 35 человек) в сравнении с больными МВ, гомозиготными по мутации F508del (524 человека), и пациентами, компаундными гетерозиготами с генотипом 3849+10kbC>T/F508del (49 человек). Мутация F508del в гене *CFTR* – наиболее частый патологический аллель для европейских и российской популяций, относится к мутациям II класса. Клиническая картина МВ у пациентов, гомозиготных по мутации F508del, характеризуется типичными тяжелыми проявлениями МВ с панкреатической недостаточностью и выраженным поражением легких [22]. Мутация 3849+10kbC>T относится к V классу. Для носителей этой мутации характерны наличие остаточной активности белка CFTR, а в клинической картине – сохранная функция поджелудочной железы и более легкое поражение бронхолегочной системы в детском возрасте [22]. Прогрессирование тяжести течения заболевания мягкое и более медленное [11].

В Регистре представлены пациенты, диагноз которым установлен как по клиническим проявлениям до введения неонатального скрининга (НС) на МВ, так и по результатам НС до манифестации заболевания. Наблюдаются достоверные различия возраста постановки диагноза до и после введения НС во всех группах пациентов с разными генотипами. Так, у 21 пациента с мутацией L138ins, выявленного в результате НС на МВ, возраст постановки диагноза был существенно ниже –  $0,47 \pm 0,14$  лет (0,09–3,1), чем у 14 пациентов, диагноз которым устанавливался на основе клинических симптомов до введе-



## Средний возраст клинико-функциональных проявлений МВ у больных с разными генотипами

Средний возраст, годы	Подгруппа (генотипы)		
	dF/3849 (1)	dF/L138 (2)	dF/dF (3)
При последнем обследовании	24,95±1,51 (1,11–47,58); 49	12,58±1,96 (0,96–38,21); 35	11,75±0,37 (0,05–39,36); 524
	*z = -4,26; p=0,00002		*z = -0,48; p=0,627
При постановке диагноза	14,34±1,27 (0,41–40,78); 49	6,71±1,65 (0,09–32,45); 35	1,99±0,16 (0–32,47); 522
	*z = -4,16; p=0,000031		*z = 1,876; p=0,061
При постановке диагноза до НС	15,39±8,49 (0,98–40,78); 45	16,06±9,5 (0,41–32,45); 14	3,14±4,35 (0,98–40,78); 304
	*z = 0,37; p=0,708		*z = 4,76; p=0,000002
При постановке диагноза по результатам НС	2,5±1,04 (0,41–4,5); 4	0,47±0,14 (0,09–3,1); 21	0,31±0,03 (0–3,47); 203
	*z = -2,37; p=0,017		*z = 2,41; p=0,0159
С хроническим поражением <i>Ps. aeruginosa</i>	27,67±1,86 (1,11–47,58); 30	26,44±5,16 (13,19–38,21); 4	16,24±0,59 (0,73–39,36); 191
	*z = -0,27; p=0,79		*z = 2,02; p=0,0430
У кого измерена функция легких	25,34±1,62 (6,37–46,89); 32	20,44±3,79 (7,52–38,21); 9	15,78±0,45 (5,32–39,36); 261
	*z = -1,23; p=0,219		*z = 1,26; p=0,207
С поражениями печени	29,75±7,64 (20,62–44,92); 3	17,94±8,66 (5,89–34,74); 3	12,75±1,36 (0,82–29,49); 26
	*z = -1,09; p=0,275		*z = 0,35; p=0,72

ния НС (16,06±2,54 лет (0,41–32,45); различия достоверны: z=4,61; p=0,000004). Поэтому сравнение возраста постановки диагноза в группах с разными генотипами проводили отдельно у больных, выявленных по клиническим проявлениям, и у больных, выявленных в результате НС.

До введения НС (пациенты, родившиеся до 2006 г. в Москве и до 2007 г. в других регионах) при диагностике по клиническим проявлениям диагноз устанавливался достоверно раньше в группе с генотипом F508del/F508del, чем при генотипе L138ins/F508del (p<0,0001) (табл. 2). В группах с генотипами L138ins/F508del и 3849+10kbC>T/F508del до НС МВ диагностировался по клиническим симптомам практически в одинаковом возрасте (16,06±2,54 и 15,39±1,27 лет соответственно) (табл. 2).

Возраст постановки диагноза по результатам НС различается между группами пациентов с разными генотипами: диагноз МВ устанавливается пациентам с генотипом L138ins/F508del достоверно раньше, чем пациентам с генотипом 3849+10kbC>T/F508del (p<0,05), но достоверно позже, чем пациентам с генотипом F508del/F508del (p<0,05) (табл. 3). Возможно, частично это объясняется тем, что показатели потовой пробы у пациентов с мутацией 3849+10kbC>T были ниже, чем в двух других группах (см. далее), и трактовались как пограничные или даже нормальные, что задерживало установление диагноза и начало терапии у больных этой группы. Кроме того, среди новорожденных с ложноотрицательным первым тестом на иммунореактивный трипсиноген чаще встречались пациенты с мутацией 3849+10kbC>T, но не с

мутацией L138ins [23]. Это может свидетельствовать в пользу большей сохранности функции поджелудочной железы вследствие большей остаточной активности хлорного канала CFTR при носительстве мутации 3849+10kbC>T по сравнению с мутацией L138ins.

Средний возраст всех пациентов на момент последнего осмотра и внесения данных в Регистр составил 12,87±0,38 (0,05–47,58) лет. Наблюдается достоверное различие этого показателя между пациентами с генотипом L138ins/F508del и пациентами с генотипом 3849+10kbC>T/F508del: больные, имеющие мутацию 3849+10kbC>T, в среднем были в 2 раза старше (p<0,001) (табл. 2). Вероятно, это объясняется более поздним возрастом постановки диагноза больным с мутацией 3849+10kbC>T (14,34±1,27 против 6,71±1,65 лет, p<0,001) (табл. 2), а также и возможной большей продолжительностью жизни у пациентов, несущих мутацию 3849+10kbC>T. Различия среднего возраста больных на момент последнего обследования и среднего возраста постановки диагноза между группами с мутацией L138ins и гомозиготами по F508del недостоверны (p>0,05) (табл. 2).

Выявлены достоверные различия средних значений концентрации хлоридов потовой жидкости между следующими группами: у пациентов с генотипом L138ins/F508del хлориды пота значимо выше, чем у пациентов с генотипом 3849+10kbC>T/F508del (p<0,05), и достоверно ниже, чем у пациентов, гомозиготных по мутации F508del (p<0,0001) (табл. 3), что может свидетельствовать о меньшей степени нарушения функции хлорного канала при мутации L138ins,

## Средние значения клинико-функциональных показателей у больных МВ с разными генотипами

Показатели	Генотипы		
	F508del/3849+10kbC>T	F508del/L138ins	F508del/F508del
Хлориды пота, ммоль/л	78,29±3,89 (38–153); 39	86,99±2,92 (45–132); 34	103,49±1,04 (20–166); 481
	*z=2,2; p=0,027		*z=-4,73; p=0,000002
ИМТ (все), кг/м <sup>2</sup>	18,18±2,79 (13,92–23,99); 45	17,41±3,69 (13,49–23,83); 21	16,42±2,57 (9,8–27,73); 501
	*z=-1,46; p=0,142		*z=0,68; p=0,494
ИМТ (дети), кг/м <sup>2</sup>	15,87±0,48 (13,92–19,02); 10	15,17±0,35 (13,49–17,43); 14	15,71±0,11 (9,8–24,81); 380
	*z=-1,11; p=0,266		*z=-0,83; p=0,407
ИМТ (взрослые), кг/м <sup>2</sup>	18,84±0,46 (13,67–27,73); 35	21,87±0,98 (17,21–23,83); 7	18,64±0,22 (13,67–27,73); 121
	*z=2,45; p=0,014		*z=2,82; p=0,0047
ФЖЕЛ, % от должного	71,21±3,56 (36,18–111,52); 32	83,88±7,85 (46,39–115,45); 9	81,74±3,87 (18,68–169,41); 260
	*z=1,61; p=0,108		*z=0,38; p=0,7
ФЖЕЛ с хроническим поражением <i>Ps. aeruginosa</i> , % от должного	65,26±5,17 (36,18–103,09); 17	64,63±9,65 (29,77–65,74); 3	76,96±2,03 (18,68–132); 138
	*z=0,15; p=0,87		*z=-1,05; p=0,29
ОФВ <sub>1</sub> , % от должного	54,52±3,87 (18,68–91,62); 32	77,56±9,81 (29,77–120,12); 9	72,34±1,68 (18,02–156,51); 261
	*z=2,19; p=0,028		*z=0,61; p=0,54
ОФВ <sub>1</sub> с хроническим поражением <i>Ps. aeruginosa</i> , % от должного	48,71±5,95 (18,68–91,62); 17	49,08±10,46 (29,77–65,74); 3	66,49±2,24 (18,02–126,39); 138
	*z=0,26; p=0,79		*z=-1,22; p=0,22

чем при мутации F508del, по крайней мере, в потовых железах.

Оценка нутритивного статуса проведена с использованием индекса массы тела (ИМТ). Не выявлено достоверных различий средних значений ИМТ между группами больных с разными генотипами при сравнении групп без учета возраста, а также при сравнении групп детей (до 18 лет) с разными генотипами. У взрослых (старше 18 лет) нутритивный статус достоверно лучше в группе больных с генотипом L138ins/F508del (21,87±0,48 кг/м<sup>2</sup>) по сравнению с пациентами, имеющими генотип 3849+10kbC>T/F508del (18,84±0,46 кг/м<sup>2</sup>; p<0,015), и гомозиготами по мутации F508del (18,64±0,22 кг/м<sup>2</sup>; p<0,01) (табл. 3). Вероятно, это связано с тем, что у взрослых больных с генотипом 3849+10kbC>T/F508del диагноз был установлен в более позднем возрасте, чем у двух других сравниваемых групп (что связано с низкими показателями потовой пробы), и, следовательно, с поздним началом терапии.

Сохранность функции поджелудочной железы оценивали по уровню фекальной эластазы-1 (ФЭ) и наличию нейтрального жира (НЖ) в копрограмме. Уровень ФЭ менее 200 мг/г и высокое содержание НЖ говорят о недостаточности экзокринной функции поджелудочной железы. Уровень ФЭ снижен у 19,1%, а высокий уровень НЖ в кале отмечен у 31,6% пациентов с генотипом L138ins/F508del. Доля больных, имеющих панкреатическую недостаточность с генотипом L138ins/F508del, достоверно ниже, чем у гомо-

зиготных по мутации F508del (p<0,0001), и не различается при сравнении с группой пациентов с генотипом 3849+10kbC>T/F508del (табл. 4).

Функцию легких оценивали по показателям объема форсированного выдоха в 1 с (ОФВ<sub>1</sub>) и форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ). У пациентов с генотипом L138ins/F508del среднее значение ОФВ<sub>1</sub> достоверно выше, чем у пациентов с генотипом 3849+10kbC>T/F508del (77,56±9,81 против 54,52±3,87%; p<0,05) (табл. 3), средний возраст пациентов, у которых измерены показатели ОФВ<sub>1</sub> и ФЖЕЛ, не различается в группах с разными генотипами (табл. 2). Показатели функции легких у пациентов с генотипами L138ins/F508del и F508del/F508del не различаются (табл. 3). Доля пациентов с нормальной ФВД в группе с генотипом L138ins/F508del достоверно выше, чем у пациентов с генотипом 3849+10kbC>T/F508del (50% против 12,5%; p<0,025) (табл. 4), следует учесть отсутствие различия среднего возраста больных в сравниваемых подгруппах (18,65±4,99 года у L138ins/F508del и 20,49±3,79 лет у 3849+10kbC>T/F508del; z=-0,4898; p=0,6242).

Проведен анализ хронической колонизации бронхолегочной системы микроорганизмами (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, нетуберкулезные микобактерии, грамотрицательная микрофлора) в сравниваемых группах. Хроническое поражение дыхательных путей *P. aeruginosa* у

## Клинические проявления у больных МВ с разными генотипами

Клинические признаки		Группы (генотипы)					
		F508del/3849+10kbC>T		F508del/L138ins)		F508del/F508del	
		n	%	n	%	n	%
Нормальная ФВД (ФЖЕЛ и ОФВ <sub>1</sub> >80% от должного)		4/32	12,5	5/10	50,0	115/261	44,6
		p=0,0228				p=0,7543	
Электролитные расстройства (синдром псевдо-Барттера)		1/46	2,2	3/33	9,1	17/521	3,3
		p=0,3029				p=0,1097	
Фекальная эластаза-1	норма (>200 мг/г)	8		17		16	
	недостаточность (<200 мг/г)	4	33,3	4	19,1	254	94,1
		p=0,7015				p<0,0001	
Нейтральный жир	норма	6		13		89	
	высокий (панкреатическая недостаточность)	2	25	6	31,6	149	62,6
		p=1				p=0,0129	
Наличие высева в анамнезе	<i>S. aureus</i>	21/46	45,6	22/32	68,7	233/516	45,2
		p=0,0639				p=0,0105	
	Нетуберкулезные <i>Mycobacteria</i>	2/23	8,7	0/19	0	3/353	0,8
		p=0,4925				p=1	
	<i>Achromobacter</i>	6/45	13,3	0/25	0,0	27/500	5,4
		p=0,0817				p=0,6317	
	<i>S. maltophilia</i>	1/46	2,2	1/31	3,2	16/517	3,1
		p=1				p=1	
<i>B. ceracia complex</i>		3/45	6,7	1/30	3,3	41/515	7,9
		p=0,6457				p=0,72	
	грамотрицательная флора	8/45	17,8	2/32	6,3	70/500	14
	p=0,1805				p=0,2906		
Аллергический бронхолегочный аспергиллез в 2014 г.		0/48	0,0	0/34	0	5/518	0,96
						p=1	
<i>P. aeruginosa</i>	хроническая	30/48	62,5	4/32	12,5	191/515	37,1
		p<0,0001				p=0,0039	
	хроническая, дети	4/10	40	1/23	4,3	113/388	29,1
		p=0,0214				p=0,0073	
хроническая, взрослые		26/38	68,4	3/9	33,3	78/127	61,4
		p=0,0676				p=0,1573	
Мекониевый илеус		0/49	0	0/35	0	47/518	8,5
						p=0,0619	
Сахарный диабет		2/48	4,2	0/34	0	31/520	5,96
		p=0,5086				p=0,2461	
Поражение печени	все поражения печени	3/47	6,4	3/33	9,1	172/517	33,3
		p=0,6866				p=0,0375	
	цирроз	0	0	1	33,3	44	
		p=0,4125				p=0,5065	
без цирроза		3		2		128	
		p=1				p=0,0108	

пациентов с генотипом L138ins/F508del выявляется достоверно реже (12,5%), чем в группах с генотипами F508del/F508del (37,1%;  $p<0,005$ ) и 3849+10kbC>T/F508del (62,5%;  $p<0,0001$ ; табл. 4). Следует отметить, что средний возраст пациентов с хроническим поражением *P. aeruginosa* в группах с генотипами L138ins/F508del (26,44±5,16 года) и 3849+10kbC>T/F508del (27,67±1,86 лет) не различается, тогда как в группе с генотипом F508del/F508del поражение *P. aeruginosa* наблюдается значительно в более раннем возрасте (16,24±0,59 лет;  $p<0,05$ ) (табл. 2).

Выявлена более высокая частота высева *S. aureus* у больных с генотипом L138ins/F508del (68,7%), чем в двух сравниваемых группах больных, для больных с генотипом F508del/F508del эти различия достоверны (45,2%;  $p<0,015$ ) (табл. 4). Не выявлено достоверных различий в частоте поражения следующей микрофлорой: *S. maltophilia*, *A. xylooxidans*, *Achromobacter spp.*, *B. ceracia complex*, *H. influenzae*, *A. fumigatus* между сравниваемыми группами больных МВ (табл. 4).

Сопоставление осложнений заболевания по группам не выявило статистически значимых

различий в частоте развития синдрома псевдо-Барттера (табл. 4).

Мекониевый илеус (МИ) не отмечен в анамнезе у пациентов с генотипами L138ins/F508del и 3849+10kbC>T/F508del, что показывает тенденцию к более благоприятному течению заболевания у больных с данными генотипами. У пациентов, гомозиготных по мутации F508del, частота МИ составила 8,5% (различия частот не достоверны) (табл. 4).

МВ-ассоциированный сахарный диабет (МВСД) не выявлен у больных с генотипом L138ins/F508del, у пациентов с генотипом 3849+10kbC>T/F508del его частота составила 4,2% (2 пациента старше 25 лет), с генотипом F508del/F508del – 5,96% (31 пациент; средний возраст – 20,11±1,29 лет), но различия в частоте МВСД недостоверны (табл. 4).

Тяжелое поражение печени (цирроз без и с портальной гипертензией) у больных с генотипом L138ins/F508del зарегистрировано с частотой 9,1%, что достоверно реже, чем у пациентов, гомозиготных по мутации F508del (33,3%;  $p < 0,05$ ) (табл. 4). Различия частоты патологии печени у больных с генотипами L138ins/F508del и 3849+10kbC>T/F508del недостоверны. Различия среднего возраста больных, имеющих поражения печени, из групп с разными генотипами недостоверны (табл. 2).

Мутация L138ins представляет собой дупликацию трех нуклеотидов СТА в экзоне 4 гена *CFTR* и относится к типу малых инсерций/делеций, не изменяющих рамку считывания (in frame insertion/deletion). В результате мутации L138ins (с.411\_412insCTA, р.Leu138dup) происходит удлинение молекулы белка *CFTR* на один аминокислотный остаток: дупликация лейцина (кодон СТА) в положении 138, что подтверждено нами при секвенировании ДНК 22 пациентов с МВ (см. рисунок).

Данная мутация располагается во втором мотиве, пронизывающем мембрану, первого мембрансвязанного домена (MSD1), участвующего в формировании поры хлорного канала *CFTR*. Вероятным последствием данной мутации может являться нарушение свойств проводимости хлорного канала. Мутация L138ins

впервые описана Т. Dörk и соавт. в 1996 г. у 34-летнего пациента с врожденным двусторонним отсутствием семьяносящих протоков (CBAVD) с сохраненной функцией поджелудочной железы, без поражения легких и показателями хлоридов в потовой жидкости 53 ммоль/л, несущем во втором аллеле 5T вариант [24].

В базе данных CFTR1 [22] приведено описание двух инсерций трех нуклеотидов в рассматриваемом регионе: в одном случае мутация в традиционной номенклатуре также обозначалась L138ins, но представляет вставку АСТ между 412 и 413 нуклеотидами, что приводит к инсерции треонина между 137 и 138 лейцинами (с.412\_413insACT; р.Ley137\_Leu138insThr). В другом случае это вставка СТА (традиционное обозначение 546insCTA) между 414 и 415 нуклеотидами, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона в положении 139 (с.414\_415insCTA; р.Leu139X). Т.е. мутация L138ins (с.411\_412insCTA, р.Leu138dup), являющаяся относительно частой у российских пациентов, отличается от мутаций, зарегистрированных в базе данных CFTR1. Мутация, рассматриваемая нами, не представлена в базе данных CFTR2 [25], но включена в базу данных 1000 геномов (EXAC) [26]. Нам удалось найти корректное описание мутации только в работе М.Ж. McGinniss и соавт. у американских пациентов [27].

Известно, что мутации, располагающиеся в регионах гена *CFTR*, кодирующих мембрансвязанные домены (например, R117H, R117C, R117P, [delta] E115, L127dup), часто имеют более мягкие клинические проявления, чем мутации, приводящие к классическим симптомам МВ. Более поздний возраст постановки диагноза, большая сохранность экзокринной функции поджелудочной железы, лучшие показатели функции дыхания и нутритивного статуса, более позднее и редкое поражение дыхательных путей *P. aeruginosa*, отсутствие таких осложнений пищеварительной системы, как МИ и МВСД, характерные для больных, несущих мутацию L138ins (р.Leu138dup), по сравнению с больными, несущими две «тяжелые» мутации (гомозиготы по мутации F508del), говорят об относительно легких клинических проявлениях исследуемой мутации.

### Заключение

Среди больных МВ из Российской Федерации мы впервые описали фенотипические проявления мутации L138ins (р.Leu138dup), представляющей собой дупликацию трех нуклеотидов СТА в экзоне 4 гена *CFTR* и относящейся к типу малых инсерций/делеций, не изменяющих рамку считывания (in frame insertion/deletion).

По сравнению с гомозиготами по мутации F508del больные с генотипом L138ins/F508del характеризовались более поздним возрастом при установлении диагноза в период до начала НС,

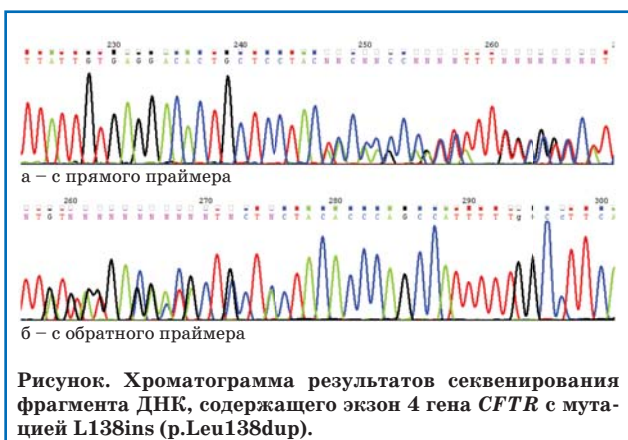


Рисунок. Хроматограмма результатов секвенирования фрагмента ДНК, содержащего экзон 4 гена *CFTR* с мутацией L138ins (р.Leu138dup).



достоверно более низкими значениями потовой пробы, чаще имели сохранную экзокринную функцию поджелудочной железы и соответственно имели лучшие показатели нутритивного статуса, а также лучшие показатели функции дыхания. У пациентов с генотипом L138ins/F508del присоединение хронической инфекции *P. aeruginosa* отмечалось позже и встречалось с меньшей частотой. Среди осложнений не отмечался МИ и МВСД, а тяжелые поражения печени выявлялись гораздо реже, чем у гомозигот по мутации F508del.

По сравнению с пациентами с генотипом 3849+10kbC>T/F508del больным с генотипом L138ins/F508del раньше устанавливался диагноз при программе НС, что, возможно, обусловлено более высокими показателями потовой

пробы. Доля больных с сохранной функцией поджелудочной железы была высока и достоверно не отличалась по группам, но при генотипе L138ins/F508del нутритивный статус взрослых больных был значительно лучше. Показатель ОФВ<sub>1</sub> был выше при последнем осмотре, а хроническая синегнойная инфекция встречалась реже, хотя и возникала в одном и том же возрасте пациентов.

Таким образом, мутация L138ins (p.Leu138dup) может рассматриваться как клинически значимая с варибельным, но относительно мягким клиническим течением МВ.

**Конфликт интересов:** работа выполнена в рамках плановых исследований лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ» и при частичной финансовой поддержке РФ (17-15-01051).

## Литература

- Муковисцидоз. Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, ред. М.: ИД «Медпрактика-М», 2014: 682.
- Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzietis M, Zielenski J, Elborn JS. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J. Cyst. Fibros.* 2008; 7 (3): 179–196.
- Ahmed N, Corey M, Forstner G, Zielenski J, Tsui L-C, Ellis L, Durie P. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut.* 2003; 52 (8): 1159–1164.
- Marson FA, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Classification of CFTR mutation classes *Lancet Respir. Med.* 2016; 4 (8): 37–38.
- Cutting GR. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat. Rev. Genet.* 2015; 16 (1): 45–56. doi: 10.1038/nrg3849.
- Griesenbach U, Alton EW. Recent advances in understanding and managing cystic fibrosis transmembrane conductance regulator dysfunction. *F1000 Prime Rep.* 2015; 7: 64. (<http://f1000.com/prime/reports/m/7/64>).
- Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, Bryon M, Duff A, Flume P, Kashirskaya N, Munck A, Ratjen F, Schwarzenberg SJ, Sermet-Gaudelus I, Southern KW, Taccetti G, Ulrich G, Wolfe S. European Cystic Fibrosis Society. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Best Practice guidelines. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (Suppl. 1): S23–42.
- Pettit RS. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator—Modifying Medications. *Ann. Pharmacother.* 2012; 46 (7–8): 1065–1075.
- Veit G, Avramescu RG, Perdomo D, Phuan P-W, Bagdany M, Apaja PM, Borot F, Szollosi D, Wu Y-S, Finkbeiner WE, Hegedus T, Verkman AS, Lukacs GL. Some gating potentiators, including VX-770, diminish ΔF508-CFTR functional expression. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6 (246): 246ra97. doi: 10.1126/scitranslmed.3008889.
- Красовский С.А., Петрова Н.В., Степанова А.А., Усачева М.В., Самоиленко В.А., Амелина Е.Л., Никонова В.С. Клиническое течение заболевания у взрослых больных муковисцидозом – носителей «мягких» мутаций. *Пульмонология* 2012; 6: 5–11.
- Красовский С.А., Амелина Е.Л., Усачева М.В., Степанова А.А., Поляков А.В., Черняк А.В., Науменко Ж.К. Фенотипические особенности взрослых больных муковисцидозом – носителей мутации 3849+10kbC>T. *Пульмонология* 2014; 1: 71–76.
- Степанова А.А., Абрикова А.В., Саваскина Е.Н., Поляков А.В. Мутация p.E92K – основная причина муковисцидоза у чувшей. *Генетика.* 2012; 48 (7): 863–871.
- Петрова Н.В., Тимковская Е.Е., Васильева Т.А., Каширская Н.Ю., Воронкова А.Ю., Шабалова Л.А., Кондратьева Е.И., Шерман В.Д., Новоселова О.Г., Капранов Н.И., Зинченко Р.А., Гинтер Е.К. Особенности спектра мутаций в гене *CFTR* у больных муковисцидозом из Карачаево-Черкесии. *Медицинская генетика.* 2015; 14 (7): 32–36.
- Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза. СПб.: Интермедика, 2002: 256.
- Одиноква О.Н. Расширенный поиск мутаций гена *CFTR* в выборке больных муковисцидозом из Сибирского региона. Сборник тезисов VII ежегодной Северо-Западной с международным участием научно-практической конференции по муковисцидозу «Практика лечения муковисцидоза». Санкт-Петербург, 2016: 9–13.
- Петрова Н.В., Васильева Т.А., Тимковская Е.Е., Капранов Н.И., Зинченко Р.А. Анализ редких мутантных аллелей гена *CFTR* у российских больных. Сборник тезисов XI Национального конгресса «Муковисцидоз у детей и взрослых. Взгляд в будущее». М., 2013: 66–67.
- Корытина Г.Ф., Викторовна Т.В., Байкова Г.В., Хуснутдинова Э.К. Анализ спектра мутаций и полиморфных локусов гена трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза в Башкортостане. *Генетика.* 2002; 38 (9): 1270–1275.
- Рукавичкин Д.В. Клинико-генотипический полиморфизм муковисцидоза среди населения Краснодарского края: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Краснодар, 2007: 27.
- Одиноква О.Н. Молекулярная диагностика муковисцидоза в Сибирском регионе: поиск мутаций гена *CFTR*. Сборник статей и тезисов X Юбилейного Национального конгресса «Муковисцидоз у детей и взрослых». Ярославль, 2011: 60.
- Степанова А.А., Красовский С.А., Поляков А.В. Информативность поиска 19 частых мутаций в гене *CFTR* у российских больных муковисцидозом и расчетная частота заболевания в Российской популяции. *Генетика.* 2016; 52 (2): 231–241.
- Красовский С.А., Каширская Н.Ю., Черняк А.В., Амелина Е.Л., Петрова Н.В., Поляков А.В., Кондратьева Е.И., Воронкова А.Ю., Усачева М.В., Адян Т.А., Степанова А.А., Алимова И.Л., Ашерова И.К., Байкова Г.В., Басиля А.В., Бойцова Е.В., Борисов А.В., Брисин В.Ю., Васильева Е.А., Васильева Т.Г., Водовозова Э.В., Воронин С.В., Гаймоленко И.Н., Голубцова О.И., Горникова Ю.В., Назаренко Л.П., Одиноква О.Н., Гембицкая Т.Е., Никонова В.С., Дьячкова А.А., Сергиенко Д.Ф., Енина Е.А., Ерзутова М.В., Зинченко Ю.С., Зоненко О.Г., Иванова Д.М., Ильенкова Н.А., Кадырова Д.В. Генетическая характеристика больных муковисцидозом в Российской Федерации по данным Национального регистра (2014). *Пульмонология.* 2016; 26 (2): 133–151. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-2-133-151.
- Cystic Fibrosis Mutation Database. URL: <http://www.genet.sickkids.on.ca> (дата обращения: 7.05.2017)
- Кусова З.А. Эффективность программы массового обследования новорожденных на муковисцидоз: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2011: 23.
- Dörk T, Dworniczak B, Aulehla-Scholz C, Wiczorek D, Böhm I, Mayerova A, Seydewitz HH, Nieschlag E, Meschede D, Horst J, Pander HJ, Sperling H, Ratjen F, Passarge E,



Schmidtke J, Stuhmann M. Distinct spectrum of CFTR gene mutations in congenital absence of vas deferens. Hum. Genet. 1997; 100 (3-4): 365-377.

25. CFTR2. Clinical and Functional Translation of CFTR. URL: <https://www.cftr2.org/> (дата обращения: 7.05.2017)

26. ExAC Browser (Beta) | Exome Aggregation Consortium,

URL: <http://exac.broadinstitute.org/> (дата обращения: 7.05.2017)

27. Matthew J. McGinniss, Arlene M. Buller, Franklin Qian, Mei Peng, Weimin Sun. Cystic Fibrosis Gene Mutations. United States Patent, US008076078B2, Dec. 13, 2011.

© Грешнякова В.А., Горячева Л.Г., 2017

DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-6-72-75

<https://doi.org/10.24110/0031-403X-2017-96-6-72-75>

В.А. Грешнякова<sup>1</sup>, Л.Г. Горячева<sup>1,2</sup>

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА IL28B НА РЕАЛИЗАЦИЮ ПЕРИНАТАЛЬНОГО КОНТАКТА И ФОРМИРОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С У ДЕТЕЙ

<sup>1</sup>ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства России, <sup>2</sup>ГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург, РФ



К настоящему моменту изучено значение полиморфизма генов  $\lambda$ -IFN (*IL28B*) rs8099917 и rs12979860 в качестве предикторов эффективности комбинированной противовирусной терапии и элиминации вируса гепатита С у взрослых больных. Работы по исследованию данных факторов у детей младшей возрастной группы и новорожденных с вирусным гепатитом С не проводились, влияние их на возможность перинатального инфицирования ребенка не изучено. Цель исследования: провести сравнительный анализ частоты полиморфизма генов *IL28B* в группах детей с перинатальным контактом по гепатиту С (с состоявшимся инфицированием и незагрязившихся) для уточнения потенциального влияния полиморфизмов на риск инфицирования и на формирование хронического гепатитов. Материалы и методы исследования: по согласованию с родителями в исследование включали детей в возрасте от 3 месяцев до 4 лет, рожденных матерями, больными вирусным гепатитом С. Исследуемую группу составили дети, перинатально инфицированные HCV; группу сравнения – здоровые дети с перинатальным контактом по гепатиту С. У всех детей методом ПЦР изучены полиморфизмы гена *IL28B* rs8099917 и rs12979860. Исследование проведено на базе ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, г. Санкт-Петербург, в период с 2013 по 2017 гг. Оценку связи полиморфизма генов *IL28B* с перинатальной HCV-инфекцией проводили на основании анализа четырехпольных таблиц сопряженности и расчета критерия  $\chi^2$  Пирсона, а также показателя относительного риска (RR). Результаты: показано, что у детей с полиморфизмами rs8099917, включающими остаток гуанина (TG, GG), риск инфицирования в 1,5 раза выше, чем у детей с гомозиготным вариантом TT (относительный риск (RR) = 1,47 (95% ДИ; 1,09; 1,99)); полиморфизмы гена rs12979860, включающие остаток тимина (CT, TT), rs12979860, также в 1,5 раза повышают риск перинатального инфицирования (RR = 1,502 (95% ДИ; 1,03; 2,19)). Формирование хронической HCV-инфекции в 1,5 раза чаще регистрируется у больных с полиморфизмами TG, GG rs8099917 (RR = 1,429 (95% ДИ; 1,069; 1,909)), аналогично и по полиморфизмам CT, TT rs12979860, (RR) = 1,508 (95% ДИ; 0,974; 2,334).

**Ключевые слова:** дети, вирусный гепатит С, хронический гепатит С, перинатальный контакт по гепатиту С, перинатальное инфицирование HCV, полиморфизм генов *IL28B*.

**Цит.:** В.А. Грешнякова, Л.Г. Горячева. Влияние полиморфизма *IL28B* на реализацию перинатального контакта и формирование хронического гепатита С у детей. Педиатрия. 2017; 96 (6): 72–75.

### Контактная информация:

Грешнякова Вера Александровна – аспирант отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России»  
Адрес: Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 9  
Тел.: (812) 234-34-16,  
E-mail: veramamayeva@gmail.com  
Статья поступила 5.05.17,  
принята к печати 6.09.17.

### Contact Information:

Greshnyakova Vera Aleksandrovna – postgraduate student of Viral Hepatitis and Liver Diseases Department, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency of Russia  
Address: Russia, 197022, St. Petersburg, prof. Popova str., 9  
Tel.: (812) 234-34-16,  
E-mail: veramamayeva@gmail.com  
Received on May 5, 2017,  
submitted for publication on Sep. 6, 2017.