

Обязательный этап ДНК-тестирования для усовершенствования неонатального скрининга и раннего выявления муковисцидоза

Одинокова О.Н., Назаренко Л.П., Сеитова Г.Н.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»
634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Представлен усовершенствованный алгоритм скрининга новорожденных на муковисцидоз (МВ) с включением, наряду с традиционной схемой обследования, обязательного этапа ДНК-тестирования у новорожденных с высоким риском. Внедренный подход обеспечил эффективную раннюю и точную диагностику заболевания у новорожденных. Встречаемость МВ в Томской области составила 1 случай на 5882 новорожденных. Установлены относительные частоты отдельных мутаций гена *CFTR*.

Ключевые слова: муковисцидоз, ДНК-тестирование, мутации гена *CFTR*, неонатальные скрининг

Для цитирования: Одинокова О.Н., Назаренко Л.П., Сеитова Г.Н. Обязательный этап ДНК-тестирования для усовершенствования неонатального скрининга и раннего выявления муковисцидоза. *Медицинская генетика* 2020; 19(7): 60-61.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.60-61

Автор для корреспонденции: Одинокова Ольга Николаевна; **e-mail:** olga.odinokova@medgenetics.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Oblygatory DNA-testing stage for improvement of neonatal screening and early diagnostics of cystic fibrosis

Odinokova O.N., Nazarenko L.P., Seitova G.N.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
Naberejnaya Ushaiki, 10, Tomsk, 634050, Russia

We present improvement algorithm of newborn screening for cystic fibrosis (CF), in which oblygatory DNA-testing stage among CF-high risk newborns was incorporated alongside with traditional screening design. Such approach make it possible for early and accurate diagnostics of CF among newborns. CF frequency in Tomsk region was 1 in 5882 newborns. Allelic frequencies of the *CFTR* gene mutation were estimated.

Keywords: cystic fibrosis, DNA-testing, mutation in the *CFTR* gene, neonatal screening

For citation: Odinokova O.N., Nazarenko L.P., Seitova G.N. Oblygatory DNA-testing stage for improvement of neonatal screening and early diagnostics of cystic fibrosis. *Medical genetics*. 2020; 19(7): 60-61. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.60-61

Corresponding author: *Odinokova Olga Nikolaevna*; **e-mail:** olga.odinokova@medgenetics.ru

Funding. The research was carried out withing the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

В настоящее время протокол скрининга новорожденных на МВ в России включает три обязательных этапа: первичный ИРТ-тест в образцах высушенной крови новорожденных первой недели жизни, повторный ИРТ и потовый тест [1]. Этап ДНК-диагностики в официальном протоколе не был предусмотрен в обязательном порядке.

Начиная в 2006 г. неонатальный скрининг на МВ в Томской области и имея уже достаточно большой опыт обследования больных региона с данной патоло-

гией, с самого начала реализации программы мы ставили задачу включения, наряду с принятой схемой скрининга, этапа ДНК-тестирования у новорожденных с высоким риском для обеспечения большей эффективности, ранней и точной диагностики заболевания.

Цель исследования — разработать усовершенствованный алгоритм скрининга новорожденных на муковисцидоз (МВ) с включением, наряду с традиционной схемой обследования, обязательного этапа ДНК-тестирования у новорожденных с высоким риском.

Материалы и методы

При выявлении высоких значений ИРТ (>70 нг/мл), подтверждаемых в ре-тесте (>40 нг/мл), семья новорожденного высокого риска приглашалась в Генетическую клинику института, где у ребенка исследовался уровень хлоридов пота, а также одновременно проводился обязательный забор крови для ДНК-исследований. Молекулярная диагностика включала исследование группы частых мутаций гена *CFTR*: F508del, I507del, 1677delTA, CFTRdele2,3 (del21kb), R334W, R347P, R347H, G551D, R553X, G542X, 2143delT, 2184insA, 2184delA, 394delTT, 306delTAGA, N1303K, W1282X, 2176insC, 3821delT, E60X, P67L, G85E, E92K, 444delA, R117C, R117H, Y122X, L138ins, 621+1G>T, 711+1G>T, L206W, 1078delT, A445E, R560T, 1811+1.6kbA>T, 1898+1G>A, 2347delG, W846X, 2789+5G>A, Q890X, 3120+1G>A, 3272-26A>G, R1066C, Y1092X(C>A), M1101K, D1152H, V520F, 1717-1G>A, S549R(T>G), S549N, R1158X, R1162X, 3659delC, 3849+10kbC>T, S1251N, 3905insT, 3944delGT и др. мутаций, а также анализ вариантов аллелей полицитидинового тракта в 8-ом интроне гена *CFTR* (IVS8-Tn: IVS8-5T, IVS8-7T, IVS8-9T). При необходимости осуществляли секвенирование кодирующих участков и фланкирующих их интронных регионов гена *CFTR*, а также исследование делеций/дупликаций отдельных экзонов гена *CFTR*.

Результаты и обсуждение

Описываемый подход внедрён в Томской области с начала функционирования программы скрининга новорожденных на МВ – с июня 2006 г. Возможность проведения ДНК-тестирования обеспечила эффективную точную диагностику заболевания, что особенно значимо для случаев с «пограничными» значениями показателей потовых тестов у обследуемых. Кроме того, именно ДНК-тестирование часто было решающим в установлении/исключении диагноза у новорожденных с мекониальным илеусом, для которых интерпретация данных стандартного обследования бывает затруднена (либо они вовсе упускались из своевременного биохимического скрининга).

По результатам проведённого в 2006-2019 гг. скрининга проведена оценка встречаемости заболевания среди новорожденных: МВ выявлен у 1 из 5882 тестируемых. Внедрённая схема обследования, включающая ДНК-тестирование, позволила установить МВ в 30 случаях, при этом обеспечив действительно максимально раннюю диагностику МВ. По результатам исследования возможна оценка относительных частот встречаемости в Томской области отдельных мутаций гена *CFTR* у новорожденных с МВ: основная мутация F508del наблюдалась на 61,67% хромосом больных новорожденных; мутация CFTRdele2,3 (del21kb) имела частоту 10%; мутации 2184insA, E92K, 1898+1G>A – 3,33%, каждая; относительно редкие точечные му-

тации (S1196S, 3849+10kbC>T, R334W, G542X и др.) составили 10%. Выявлены также два случая крупной геномной дупликации (3,33%). Таким образом, учитывая частую делеционную мутацию CFTRdele2,3, крупные внутригенные перестройки у новорожденных-больных составили 13,33%.

Нами впервые у новорожденного с МВ установлена не описанная ранее новая мутация гена *CFTR*: с.273+2_273+6delTAAGG или IVS3+2_6delTAAGG. Описываемая нами делеция пяти нуклеотидов разрушает каноническую последовательность начальной области соответствующего интрона, следствием чего должно быть нарушение процесса сплайсинга экзона 3 гена *CFTR*. Заметим, что согласно современным стандартам генетический анализ мутаций гена *CFTR* можно считать эффективным при более чем 95%-ной вероятности обнаружения мутаций. В группе выявленных больных новорожденных Томской области суммарно идентифицировано 96,67% мутаций гена *CFTR*. Не определяемые на настоящее время мутации гена составили 3,33%.

Типирование патологических вариантов у больного облегчает генетическое консультирование его семьи. В существенной доле семей с выявленными больными новорожденными в последующем проводилась пренатальная диагностика для предотвращения повторных случаев МВ в семье. В последние два года нами также внедрено пренатальное ДНК-тестирование мутаций гена *CFTR* при наличии специфических маркеров, выявляемых при УЗИ у плодов на 19–21 недели гестации. Это позволило предотвратить рождение двух детей больных МВ (определены оба патогенных аллеля гена *CFTR*) в ранее неотягощённых по МВ семьях.

Таким образом, МВ выявлен у 1 из 5882 новорожденных. Внедрённый алгоритм неонатального скрининга на МВ в Томской области с включением обязательного этапа ДНК-тестирования обеспечивает возможность эффективной диагностики, а также позволяет сократить время постановки диагноза и возможно раньше начать специфическое лечение. В перспективе, точный молекулярный диагноз важен для возможных в последующем персонализированных рекомендаций по лечению в зависимости от выявляемых у пациента генных нарушений.

Литература

1. Национальный консенсус (2-е издание) «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» 2018 / Под редакцией Е.И. Кондратьевой, Н.Ю. Каширской, Н.И. Капранова – М.: ООО «Компания БОРГЕС», 2018, 356 с.

References

1. Nationalniy consensus (2-oe izdanie) «Mukoviscidoz: opredelenie, diagnosticheskie kriterii, terapiya» 2018 [National consensus (2nd edition) «Cystic Fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy» 2018] / pod redakciey E..I.Kondratjevoj, N.U. Kashirskoj, N.I. Kapranova [edited by E. I. Kondratjeva, N. Y. Kashirskaya, N. I. Kapranov] M.:OOO «Kompaniya BORGES», 2018, 356 s. [M.: Borges Company Ltd., 2018, 356 p.] (In Russ.)