

PROFILUL MUTAȚIILOR ÎN GENA CFTR LA PACIENȚII CU FIBROZĂ CHISTICĂ DIN ROMÂNIA

LUCIAN FRENȚESCU

Catedra de Biologie Celulară și Moleculară, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Rezumat

Fibroza chistică (FC) este cea mai frecventă boală genetică cu transmitere autosomal-recesivă la populațiile de rasă caucaziană. Această afecțiune este produsă de defectul unui transportor pentru ionul de clor, numit Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR). În lucrare se prezintă un rezumat al cercetărilor efectuate în România asupra mutațiilor din gena CFTR. Profilul acestor mutații este acum cunoscut; cea mai frecventă mutație este F508del, care a fost detectată în aproximativ 54% din cromozomii de la pacienții cu FC.

Cuvinte cheie: fibroza chistică, mutații, România.

THE PROFILE OF MUTATIONS IN THE CFTR GENE IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS FROM ROMANIA

Abstract

Cystic fibrosis (CF) is the most frequent genetic disease with autosomal-recessive transmission in the Caucasian populations. This disorder is produced by the defects of a chloride ion transporter, named Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR). This paper summarizes the research performed in Romania on the mutations in the CFTR gene. The profile of these mutations is now identified; the most frequent mutation is F508del, which was detected in about 54% of the chromosomes from CF patients.

Keywords: cystic fibrosis, mutations, Romania.

INTRODUCERE

Fibroza chistică (FC) este cea mai frecventă boală genetică cu transmitere autosomal-recesivă a rasei albe și are o incidență cuprinsă între 1/2000 și 1/2500 nou-născuți vii în majoritatea țărilor europene. Boala are ca mecanism principal defectul transportului ionului de clor prin epiteliile și se manifestă prin pneumopatie obstructivă cronică, insuficiență pancreatică și creșterea concentrației de sodiu și clor în sudoare. Deficitul transportului clorului duce la scăderea fluidificării secrețiilor din ficat, colecist, duoden, pancreas, plămân, glande salivare și tractul genital, care sunt afectate de mucusul foarte vâscos [1]. Gena FC a fost localizată pe brațul lung al cromosomului 7 și identificată în 1989; a fost numită CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) și s-a stabilit că cea mai frecventă mutație este deleția a trei baze (CTT) din exonul 10, care

duce la absența restului de fenilalanină din poziția 508 a proteinei; mutația a fost denumită F508del (delta F508 sau $\Delta F508$) și este prezentă pe aproximativ 66% din toți cromozomii de la pacienții cu FC de pe glob [2,3,4]. S-a demonstrat că proteina CFTR are rol de canal pentru ionul de clor [5]. Criteriile de diagnostic în FC sunt boala pulmonară cronică, insuficiența pancreatică, concentrația crescută de clor în sudoare, istoricul familial pozitiv și cel puțin o mutație detectată în gena CFTR [1,6]. Studiul mutațiilor cauzatoare ale bolii s-a dezvoltat și s-a ajuns la peste 1600 de mutații cunoscute [7].

CERCETĂRI DIN ROMÂNIA ASUPRA MUTAȚIILOR DIN GENA CFTR

Primul studiu din România al mutațiilor genei CFTR a cuprins 32 copii din evidența Centrului de Mucoviscidoză Timișoara, la care testul genetic s-a efectuat la Laboratorul de Genetică Moleculară al Spitalului Regal de Copii din Manchester, Marea Britanie și s-a stabilit o incidență a mutației F508del de 25%; ulterior prin creșterea numărului de cazuri analizate incidența acestei mutații a fost de 28,5%;

Articol intrat la redacție în data de: 03.11.2009

Primit sub formă revizuită în data de: 24.11.2009

Acceptat în data de: 15.12.2009

Adresa pentru corespondență: lfrentescu@umfcluj.ro

procentul de mutații neidentificate a fost de 57% [8,9].

S-a raportat că mutația F508del are în România frecvența de 36,6%, 2043delG 2%, W1282X 1,7%, 1717-2A->G, I148T, 621+1G->T, G542X, R553X, G576X, 1898+1G->A, 2183AA->G câte 1,4%, pe baza rezultatelor de la Manchester [10].

Conform bazei de date *on-line* a Consorțiului pentru Analiza Genetică în Fibroza Chistică (Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium - CFGAC) (noiembrie 2005), la pacienții cu FC din România s-au detectat mutațiile 1717-2A->G, G576X, M1210K, R735K și variațiile de secvență 1092A/G și 2940A/G [7].

La Centrul de Medicină Moleculară din cadrul Disciplinei de Biologie Celulară și Moleculară de la UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca s-a efectuat cel mai amplu studiu din România asupra mutațiilor în gena CFTR la pacienții cu FC. Din primele 3 cazuri analizate de Benga și col. în 1996 la Universitatea de Medicină Val de Marne, Créteil, Paris, la un caz s-a stabilit prezența mutației F508del în formă homozigotă și a unor polimorfisme în alte locusuri din gena CFTR [11]. În total s-au analizat probele de la 149 pacienți cu criterii clinice și paraclinice pozitive pentru FC, în colaborare cu Laboratorul de Genetică Moleculară de la Spitalul Regal de Copii din Manchester, Marea Britanie și Departamentul de Genomică Umană de la Institutul pentru Biologie Moleculară și Genetică al Academiei Naționale de Știință din Kiev, Ucraina și s-au detectat 161 cromosomi cu mutația F508del (54%), 13 cu G542X (4,4%), 7 cu W1282X (2,4%), 4 cu CFTRdele2,3(21kb) (1,3%) și alte 18 mutații pe câte doi sau un cromosom, cu un procent sub 1% [11-18]. Rezultatele indică o structură a mutațiilor asemănătoare cu populațiile de origine latină din sudul Europei (Italia, Franța și Spania), dar s-au detectat și mutații de origine slavă [19] (Tabelul I).

În România s-au detectat patru din cele cinci mutații frecvente în Europa (F508del, G542X, W1282X, N1303K, și G551D), lipsind mutația G551D, care este de origine

celtică [20]. Studiarea mutațiilor din gena CFTR este utilă pentru confirmarea diagnosticului clinic, testarea și utilizarea unor medicamente specifice pentru anumite mutații în tratamentul acestor pacienți, dar confirmă și unele date istorice despre formarea poporului român: mutația G542X, de origine feniciană și specifică zonei Mării Mediterane [20], putea fi introdusă în urma colonizării Daciei de către romani, iar mutația CFTRdele2,3(21kb) [19] putea să apară în urma imigrațiilor slave.

Recent, Centrul Național de Mucoviscidoză din Timișoara a publicat rezultatele analizei a 17 pacienți cu FC, la care s-au identificat 18 alele mutante: F508del (44,11%), G542X (5,88%), I148T (2,94%) și a comunicat rezultatele unui lot de 40 pacienți selectați pe baza simptomelor clinice și valorilor testului sudorii. S-au identificat 41 alele mutante: F508del (42,5%), G542X (6,25%), I148T și N1303K. Prin combinarea noilor date cu cele obținute printr-un studiu retrospectiv în colaborare cu Laboratorul de Genetică Moleculară de la Spitalul Regal de Copii din Manchester (Marea Britanie) s-a obținut următoarea distribuție a mutațiilor la 96 pacienți: F508del 47,92%, non-F508del 17,19% și necunoscute 34,89% [21]. S-au raportat și rezultatele diagnosticului prenatal la 9 cupluri: s-au identificat 3 genotipuri heterozigot (F508del/N, G542X/N), unul heterozigot compus F508del/621+1G->T și 5 normale [22].

Un grup de la laboratorul Genetic Lab din București a testat 38 pacienți pentru 36 mutații din gena CFTR cu kiturile INNO-LiPA CFTR19 și INNO-LiPA CFTR17 și au detectat mutațiile F508del, W1282X, N1303K, R347P, 394delTT și G85E [23].

În România FC rămâne, probabil, o boală subdiagnosticată clinic, astfel că în Registrul Național de Mucoviscidoză sunt înscrși 350 de pacienți, dintre care 300 de copii și 50 de adulți [24], față de câteva mii în țări ca Franța și Marea Britanie. Testul genetic se efectuează în puține centre și numai pentru cele mai frecvente mutații; activitatea este finanțată din granturi și din fondurile

Tabelul I. Cele mai frecvente mutații în gena CFTR în România, alte țări europene și S.U.A.

	F508del	G542X	W1282X	N1303K	G551D	CFTR dele2,3 (21kb)	Refe- rințe:
România	54	4,4	2,4			1,3	11-18
Bulgaria	63,6	3,9	1	5,6			10
Rep. Moldova	50						10
Ucraina	65,2				1,8	1,1	10
Ungaria	54,9	1,7	1,8	1,3	1		10
Serbia și Muntenegru	68,9	4					10
Italia	50,9	3,1		1,4			10
Franța	67,7	2,9		1,8			10
Spania	52,7	8		2,5			10
Germania	71,8	1,2		1,8		1,2	10
Rusia	54,4		1			5	10
Marea Britanie	75,3	1,7			3,1		10
S.U.A.	68,6	2,4	1,4	1,3	2,1		10

Cifrele reprezintă procente din totalul cromosomilor de la pacienți. Spațiile libere reprezintă proporții între 0 și 1%.

spitalelor de pediatrie care beneficiază de rezultate. Kiturile de analiză, fiind produse în Europa Occidentală, nu sunt adaptate foarte bine la profilul mutațiilor [25]. Nici prin investigarea mutațiilor rare nu s-a depășit o rată de detecție de 73% [17]. Această situație poate fi cauzată de selecția deficitară a cazurilor trimise pentru testul genetic și de o heterogenitate genetică ridicată a populației. Pentru creșterea calității testului genetic va fi necesară o sursă de finanțare constantă, prin sistemul de asigurări de sănătate, o trimitere selectivă pentru analiză, în primul rând a pacienților cu formă clasică de boală și cu testul sudorii patologic și înființarea a cel puțin unui laborator național de referință unde să se poată analiza mutațiile rare prin secvențierea ADN.

CONCLUZII

În România studiul mutațiilor în gena fibrozei chistice a debutat mai târziu și s-a efectuat pe un număr mult mai mic de pacienți față de alte țări europene. Totuși, s-a reușit identificarea celor mai frecvente mutații și a proporției lor, astfel încât acum se cunoaște profilul mutațiilor din gena CFTR la pacienții cu FC din țara noastră.

Bibliografie

- Di Sant' Agnese PA, Farrell PM. Neonatal and general aspects of cystic fibrosis. In: Young DS, Hicks IM (eds): The neonate, John Wiley and Sons Inc., New York, 1976, 199-217
- Rommens JM, Iannuzzi M, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989;245(4922):1059-65
- Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterisation of complementary DNA. *Science* 1989;245(4922):1066-73
- Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science*, 1989;245(4922):1073-80
- Anderson MP, Gregory RJ, Thomson S, et al. Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity. *Science* 1991;253:202-205
- Dequeker E, Cuppens H, Dodge J, et al. Recommendations for quality improvement in genetic testing for cystic fibrosis. European Concerted Action on Cystic Fibrosis. *Eur J Hum Gen* 2000;8:S2-24
- The Cystic Fibrosis Mutation Database, disponibilă de la URL: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>
- Popa I, Pop L, Popa Z, et al. Cystic fibrosis mutations in Romania. *Eur J Pediatr* 1997;156 (3):212-213
- Popa I, Pop L, Popa Z. Fibroza Chistică (Mucoviscidoza). Editura Viața Medicală Românească, București 1998, 24-39, 55-63, 80-113
- Bobadilla JL, Macek MJR, Fine JP, Farell PM: Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations - correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mut* 2002;9(6):575-606
- Filip M, Grigorescu-Sido P, Frențescu L, Benga Gh: Corelație particulară genotip - fenotip într-un caz de fibroză chistică cu mutația $\Delta F508$. *Clujul Medical* 1997;Vol. LXX, 2:247-250
- Frențescu L, Brownsell L, Pop L, et al. Analysis of the cystic fibrosis mutation $\Delta F508$ in a group of patients from Romania. *Bull Mol Med* 2001; 9-10 Fall – Winter:49-54
- Frențescu L, Nechyporenko M, Pop L, et al. Analysis of the large deletion CFTRdele2,3(21kb) in a group of cystic fibrosis patients from Romania. *Bull Mol Med* 2001; 9-10 Fall – Winter:55-60.
- Frențescu L, Brownsell E, Hinks J, et al. The study of cystic fibrosis gene mutations in a group of patients from Romania. *Bull Mol Med* 2002; Spring-Summer-Fall 11-13:1-10
- Frențescu L, Shaw H, Hinks J, et al. A new cystic fibrosis mutation - R735K - observed in a Romanian patient with mild respiratory disease. *Bull Mol Med* 2002; Winter 14:8-13
- Frențescu L. Introducere în biologia și patologia moleculară a fibrozei chistice. Editura Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2006, 99-102
- Frențescu L, Brownsell E, Hinks J, et al. The study of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator gene mutations in a group of patients from Romania. *J Cystic Fibrosis* 2008;7:423-428
- Frențescu L, Budișan L. Profilul mutațiilor în gena fibrozei chistice la pacienții din România. Al 8-lea Congres Național de Medicină de Laborator cu Participare Internațională, Iași, Volum de Rezumate 2009, 20.
- Dörk T, Macek MJR, Mekus F, et al. Characterization of a novel 21-kb deletion, CFTRdele2,3(21 kb), in the CFTR gene: a cystic fibrosis mutation of Slavic origin common in Central and East Europe, *Hum Genet* 2000;106:259-268
- Estivill X, Bancells C, Ramos C and The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. *Hum Mut* 1997;10:135-54
- Tămaș L, Popa I, Pop L, Anghel A, Popa Z, Marian C. Genetic analysis of CFTR mutations in cystic fibrosis patients from Romania. *Timișoara Medical Journal* 2006;56(1):23-28
- Tămaș L, Popa I, Pop L, et al. Prenatal genetic diagnosis in couples of CFTR mutations carriers by ARMS-PCR method and STR genotyping. A IV-a Conferință a Societății Române de Genetică Medicală, Craiova, Volum de Rezumate, 2008, 15-16.
- Dragomir C, Stan A, Ștefănescu D, Bădilă M, Savu L. Detection of the CFTR gene mutations. A IV-a Conferință a Societății Române de Genetică Medicală, Craiova, Volum de Rezumate 2008, 14-15
- Asociația de Fibroză Chistică din România, <http://www.afcr.ro>
- Pop L, Popa I, Tămaș L. Limitele truselor standard pentru diagnosticul genetic al mucoviscidozei (fibrozei chistice) în România. A IV-a Conferință a Societății Române de Genetică Medicală, Craiova, Volum de Rezumate 2008, 53-54