

Исследование спектра мутаций гена *MEFV* в популяции Ростовской области

Лянгасова О.В., Машкина Е.В., Луценко Е.В., Пирумян К.В., Бояджян А.С., Батталов Д.В., Шкурат Т.П.,

Введение

Периодическая болезнь (ПБ) (синонимы: семейная средиземноморская лихорадка, армянская болезнь) – наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся повторяющимися эпизодами жара и асептического воспаления серозных и синовиальных оболочек (Sohar E. et al., 1967). Тяжесть симптомов варьирует индивидуально, даже среди членов одной семьи. Амилоидоз, ведущий к отказу почек, является самым тяжелым осложнением. Основным методом лечения, предотвращающим это осложнение, является применение колхицина. В случае неэффективности/непереносимости колхицина возможно применение других лекарственных средств, в том числе генно-инженерных биологических препаратов (ингибиторы ИЛ-1 β и др.) (Арутюнян М.В., Акопян Г.С., 2000; Shohat M., Halpern G.J., 2011; Федоров Е.С. и др., 2013).

Причиной заболевания являются мутации в гене *MEFV* (*MEDITERRANIAN FEVER*), локализованном на коротком плече хромосомы 16 (16p13.3) (Booth D.R. et al., 2000; Саркисян Т.Ф. и др., 2007). Ген *MEFV* функционирует преимущественно в гранулоцитах, продуктом является белок пирин (маренострин). Данный белок состоит из 781 аминокислотного остатка и относится к семейству ядерных факторов. Белок пирин участвует в регуляции воспалительного процесса и апоптоза. Предполагается, что в

норме пирин контролирует воспалительный процесс путем деактивации
Лянгасова О. В., Машкина Е. В., Луценко Е. В., Пирумян К. В., Бояджян А. С., Батталов Д. В., Шкурат Т. П., Исследование спектра мутаций гена *MEFV* в популяции Ростовской области // «Живые и биокосные системы». — 2014. — № 8; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-8/article-13>.

иммунного ответа. Мутантный белок теряет способность обратной регуляции воспаления (Mkrtchan G.M. et al., 2006; Giaglis S. et al., 2007; Shohat M., Halpern G.J., 2011).

К настоящему времени зафиксировано более 80 мутаций, которые являются миссенс-мутациями (Федоров Е.С. и др., 2013). Разное клиническое течение может быть обусловлено разными мутациями. Самой распространенной мутацией является *M694V*, которая в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состояниях приводит к развитию наиболее тяжелых симптомов заболевания и более ранней манифестации и чаще всего сопровождается развитием амилоидоза почек; отмечена также плохая реакция на колхицин (Dewalle M. et al., 1998; Giaglis S. et al., 2007; Shohat M., Halpern G.J., 2011; Ong F. et al., 2012). В гомозиготном состоянии в основном встречаются мутации *V726A*, *M680I* и *R761H*. При сравнении клинических симптомов у больных гетерозигот по этим четырем мутациям с гомозиготами наблюдается 90%-ная корреляция (Саркисян Т.Ф. и др., 2007; Shohat M., Halpern G.J., 2011). Мутации *E148Q* и *V726A* ассоциированы с относительно легким фенотипом (Bakkaloglu A., 2003; Саркисян Т.Ф. и др., 2007). Больные периодической болезнью, гомозиготные по мутации *E148Q* гена *MEFV* имеют, как правило, более гетерогенную клиническую картину и обязательно нуждаются в лечении колхицином (Topaloglu R. et al., 2005). Кроме того, встречаются гомозиготы и компаунд-гетерозиготы по *E148Q* с бессимптомным носительством, исключая вариант *M694V/E148Q*. Полученные данные могут свидетельствовать о пониженной пенетрантности этой мутации, что способствует ее широкому распространению (Shohat M., Halpern G.J., 2011). У бессимптомных носителей встречаются мутации *P369S*,

M694I, *F479L* и *R42W* в гетерозиготном и компаунд-гетерозиготном состояниях и ассоциированы с «мягким» фенотипом. Предполагается, что эти мутации также имеют низкую пенетрантность.

Наиболее часто периодическая болезнь встречается у народов Средиземноморья (евреи, армяне, арабы, турки), однако заболевание получило широкое распространение вследствие межконтинентальных путешествий в двадцатом веке (Allen J.N. et al., 2003; Bakkaloglu A., 2003; Саркисян Т.Ф. и др., 2007). В разных популяциях мутации гена *MEFV* встречаются с разной частотой: среди турков, а также у евреев-ашкенази, частота носительства мутаций гена *MEFV* составляет 1:5; среди евреев, проживающих на севере Африки – варьирует от 1:5 до 1:10 (Bakkaloglu A., 2003). Согласно исследованиям Т.Ф. Саркисян и соавт. (2007), частота носительства мутаций гена *MEFV* среди населения республики Армения – 1:5. В Ростовской области армяне составляют значительную часть населения, но частота мутаций гена *MEFV* для данного региона не изучена.

Цель

В связи с этим, целью данной работы было изучение спектра и частот распространения мутаций в гене *MEFV* среди армян и русского населения Ростовской области.

Материал и методы исследования

В исследовании приняли участие 105 жителей Ростовской области с диагнозом периодическая болезнь и имеющие родственников с данным заболеванием. Среди пациентов было 53 женщины и 52 мужчины в возрасте

от 4 до 88 лет. Все пациенты подписали информированное согласие об участии в исследовании.

Материалом для исследования послужили образцы крови. Для выделения ДНК из крови использовали фенол-хлороформный метод. Секвенирование экзона 10 гена *MEFV* было выполнено на автоматическом восьми-капиллярном генетический анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems).

При оценке соответствия данных исследуемых выборок применяли критерий χ^2 . Определение частот аллелей и генотипов проводили с помощью закона Харди-Вайнберга. Статистический анализ проводили с помощью критерия Стьюдента. Для сравнительного анализа трех возрастных групп определяли доверительный интервал доли (Гланц С., 1999).

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов секвенирования экзона 10 гена *MEFV* в 105 исследуемых образцах показал, что у 38 пациентов с диагнозом периодическая болезнь мутаций в экзоне 10 гена *MEFV* не обнаружено. У 67 пациентов выявлено 6 мутаций в экзоне 10 гена *MEFV* (рис. 1).

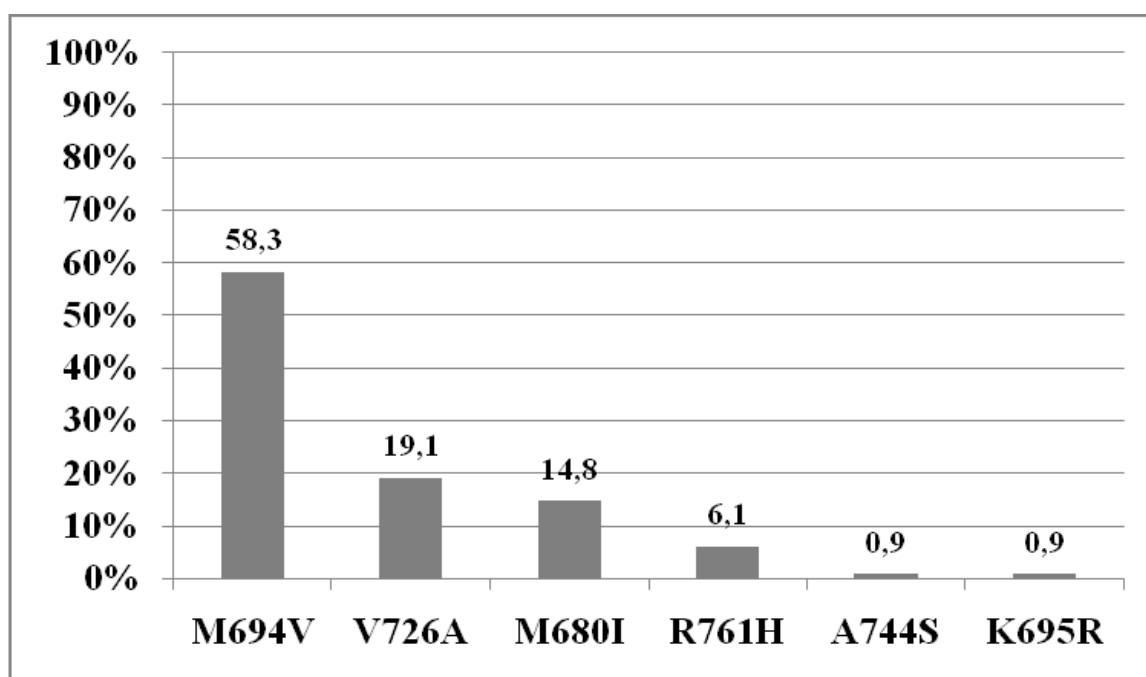


Рисунок 1 - Спектр мутаций в экзоне 10 гена *MEFV* среди жителей Ростовской области

98,5% больных периодической болезнью имеют хотя бы одну четырех наиболее часто встречающихся мутаций – *M694V*, *V726A*, *M680I*, *R761H*.

Среди пациентов с мутациями в гене *MEFV* было 38 мужчин (57%) и 29 женщин (43%), но эти различия статистически не значимы ($p > 0,05$). Среди всех носителей мутации *M694V* 61,5% - мужчины. Среди носителей мутации *V726A* также незначительно преобладают мужчины – 60%. Мутация *M680I* распределена практически равномерно среди больных мужского и женского пола – 56,25% у мужчин. Мутация *R761H* в исследуемой группе встретилась только у четверых пациентов – двое мужчин и две женщины. Оставшиеся две мутации *A744S* и *K695R* встретились по одному разу, у женщин. Мутации среди мужчин и женщин распределены практически равномерно, однако есть данные о неполной пенетрантности мутантных генотипов у женщин (Sarkisian T. et al., 2005).

Далее был проведен анализ спектра мутаций у жителей Ростовской области по возрастным группам: первая возрастная группа – до 1969 года рождения включительно (10 чел.); вторая возрастная группа – 1970-1999 года рождения (37 чел.); третья возрастная группа – после 2000 года рождения включительно (20 чел.) (рис. 2).

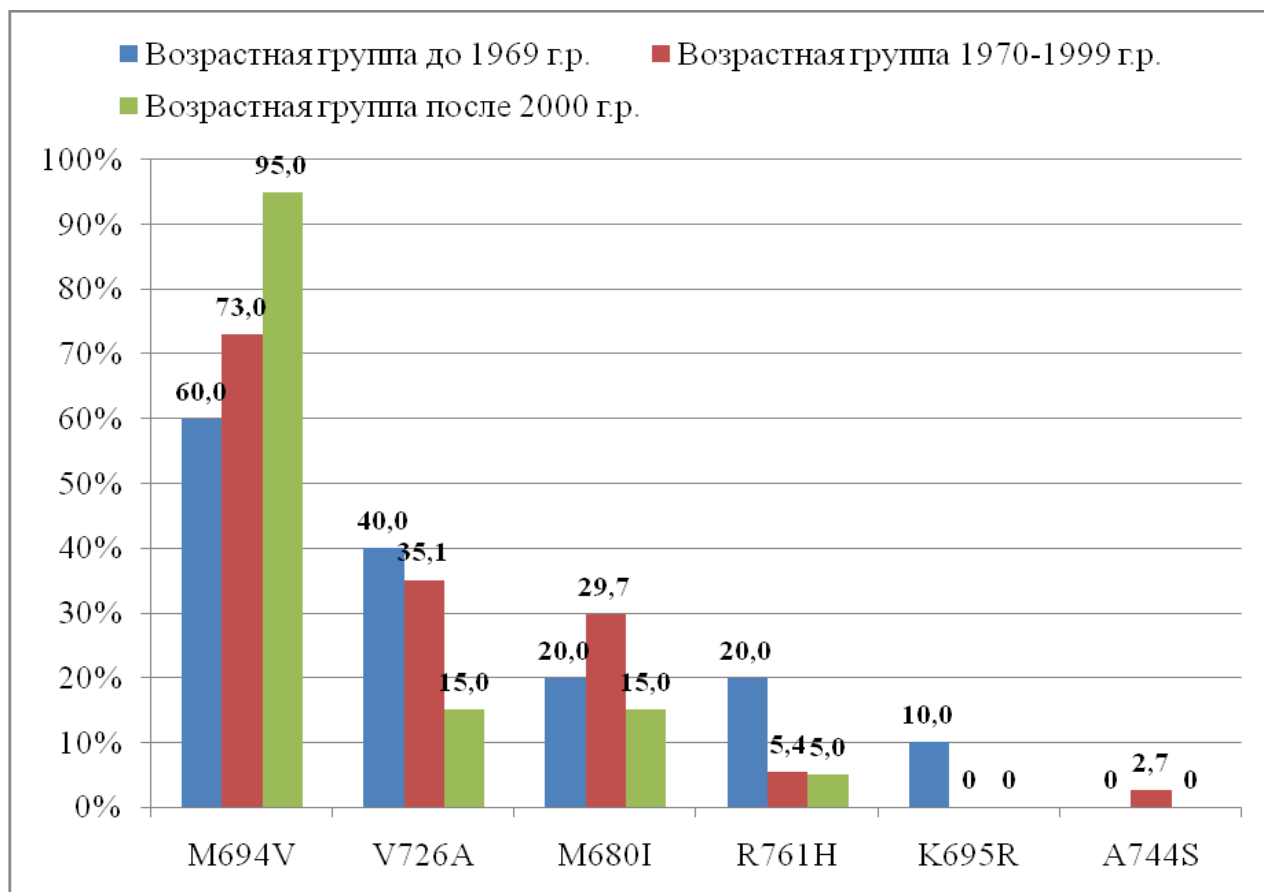


Рисунок 2 - Частота регистрации мутаций среди жителей Ростовской области, для которых было проведено секвенирование экзона 10 гена *MEFV*, по возрастным группам

По представленным на рисунке 2 данным видно, что независимо от года рождения преобладает мутация *M694V*. Частота данной мутации в разных возрастных группах колеблется от 60% до 95%. На втором месте по частоте встречаемости находится мутация *V726A*. Однако в динамике, с

течением времени, прослеживается сокращение частоты ее встречаемости (с 40% у людей до 1969 г.р. до 15% у детей после 2000 г.р.). Третья наиболее часто регистрируемая мутация *M680I* варьирует в пределах 15-29,7% по частоте встречаемости среди населения Ростовской области. Мутация *R761H* регистрируется у небольшой части населения. За последние годы частота ее регистрации сократилась с 20% до 5%. Однако, она присутствует в популяции, поэтому ее также можно отнести к мутациям, характерным для жителей Ростовской области.

Среди пациентов с мутациями в гене *MEFV* (67 человек) был проведен анализ их генотипов. Чаще всего встречаются пациенты с мутациями в состоянии компаунд-гетерозигот – 41,79%. Пациенты с мутациями гена *MEFV* в гомо- и гетерозиготном состоянии встречаются с практически одинаковой частотой – 29,85% и 28,36% соответственно (табл. 1). Таким образом, 71,64% больных периодической болезнью, проживающих в Ростовской области, имеют две мутантные аллели в экзоне 10 гена *MEFV*. Похожие данные приводятся для жителей Республики Армения – 74,8% (Sarkisian T. et al., 2005).

Таблица 1 – Количество зарегистрированных на территории Ростовской области больных периодической болезнью с различными генотипами по гену *MEFV*

Тип генотипа	Генотип	Кол-во человек	% от общего кол-ва
Компаунд-гетерозиготы	<i>M680I</i> © / <i>M694V</i>	11	16,42%
	<i>M694V</i> / <i>V726A</i>	10	14,93%
	<i>M680I</i> / <i>V726A</i>	3	4,48%
	<i>M680I</i> / <i>R761H</i>	1	1,49%
	<i>M694V</i> / <i>K695R</i>	1	1,49%
	<i>M694V</i> / <i>R761H</i>	1	1,49%
	<i>V726A</i> / <i>R761H</i>	1	1,49%

	Всего	28	41,79% ± 9,32
Гомозиготы	<i>M694V / M694V</i>	15	22,39%
	<i>V726A / V726A</i>	2	2,99%
	<i>R761H / R761H</i>	2	2,99%
	<i>M680I / M680I</i>	1	1,49%
	Всего	20	29,85% ± 10,23
Гетерозиготы	<i>M694V / N</i>	14	20,90%
	<i>V726A / N</i>	4	5,97%
	<i>A744S / N</i>	1	1,49%
	Всего	19	28,36% ± 10,34
Итого:		67	100%

Таким образом, определен спектр генотипов по гену *MEFV*, встречающихся у жителей Ростовской области. Ниже приведена сравнительная характеристика частот генотипов, наиболее характерных для жителей Ростовской области и жителей Республики Армения (табл. 2).

Таблица 2 – Сравнение частот встречаемости генотипов между жителями Ростовской области и Республики Армения

Генотип	Ростовская область	Армения (по данным Саркисян Г.Ф. и др., 2007)
<i>M694V / M694V</i>	22,4%	20,9%
<i>M694V / N</i>	20,9%	
<i>M680I© / M694V</i>	16,4%	12,7%
<i>M694V / V726A</i>	14,9%	18,0%
<i>V726A / N</i>	6,0%	
<i>M680I / V726A</i>	4,5%	9,8%
<i>V726A / V726A</i>	3,0%	2,8%
<i>R761H / R761H</i>	3,0%	

Самый распространенный среди больных периодической болезнью генотип *M694V / M694V* практически с одинаковой частотой встречается и у жителей Ростовской области, и у жителей Армении. По другим генотипам

есть небольшие различия, но генотип *M680I / V726A* в два раза чаще встречается у жителей Армении.

В разных популяциях мутации гена *MEFV* встречаются с разной частотой (табл. 3). В подавляющем большинстве популяций на первом месте по частоте встречаемости находится мутация *M694V* (от 19,5% у арабов до 76,8% у евреев-неашкенази). Однако, в популяции турок, проживающих в турецкой провинции Хатай, эта мутация регистрируется лишь в 7,95% случаев, чаще всего здесь регистрируется замена *R202Q* – с частотой 21,35% (Gunesacar R. et al., 2014). Практически с такой же частотой эта замена регистрируется и у греков – 21,4%. В гетерозиготном состоянии замена *R202Q* встречается у больных периодической болезнью и у здоровых людей практически с одинаковой частотой – 31,6% и 33,6% соответственно; в гомозиготном состоянии - у больных периодической болезнью с частотой 9,2%, у здоровых – 0,7%. Таким образом, предполагается, что замена *R202Q* в гомозиготном состоянии ассоциирована с периодической болезнью (Giaglis S. et al., 2007). Похожие результаты были получены в 2008 и 2012 годах исследователями из Турции А. Ozturk и S. Yigit соответственно (Gunesacar R. et al., 2014).

Таблица 3 – Спектр мутаций в гене *MEFV* среди больных периодической болезнью, представителей различных национальностей

Популяция	<i>M694V</i>	<i>V726A</i>	<i>M680I</i>	<i>R761H</i>	<i>M694I</i>	<i>E148Q</i>	<i>A744S</i>	<i>R202Q</i>	Ссылка на источник
Армяне	50,6%	22,3%	18,7%	3,2%	0,4%	2,2%	-	-	Саркисян Т.Ф. и др., 2007
Еврей-ашкенази	38,5%	38,5%	-	-	-	15,3%	7,7%	-	Stoffman N. et al., 2000
Еврей-неашкенази	76,8%	11,7%	0,4%	-	0,8%	9,7%	-	-	Stoffman N. et al., 2000;

Лянгасова О. В., Машкина Е. В., Луценко Е. В., Пирумян К. В., Бояджян А. С., Батталов Д. В., Шкурат Т. П., Исследование спектра мутаций гена *MEFV* в популяции Ростовской области // «Живые и биокосные системы». — 2014. — № 8; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-8/article-13>.

									Sharkia R. et al., 2013
Арабы	19,5%	32,7%	12,6%	-	14,1%	20,8%	-	-	Sharkia R. et al., 2013
Азербайджанские турки, проживающие на Северо-Западе Ирана	31,5%	10,8%	10%	1,5%	2,3%	13,8%	1,5%	-	Mohammadnejad L., Farajnia S., 2013
Турки, проживающие в турецкой провинции Хатай	7,95%	1,85%	2,4%	0,55%	0,95%	8,85%	0,8%	21,35%	Gunesacar R. et al., 2014
Греки	38,1%	12,2%	19,7%		2,7%	10,9%		21,4%	Giaglis S. et al., 2007

В таблице 4 показаны частоты мутаций в гене *MEFV* среди представителей стран Средиземноморского региона, жители которых предрасположены к периодической болезни.

Таблица 4 – Частота носительства мутаций гена *MEFV* среди населения Армении, Турции, Израиля и т.д.

Популяция	Частота носительства	Ссылка на источник
Армяне	1:5	Саркисян Т.Ф. и др., 2007
Турки	1:5	Bakkaloglu A., 2003
Евреи-ашкенази	1:4,5	Stoffman N. et al., 2000
Евреи-неашкенази	1:3,5	Stoffman N. et al., 2000; Sharkia R. et al., 2013
Арабы	1:4,3	Sharkia R. et al., 2013

Таким образом, в проведенном исследовании выявлен спектр мутаций экзона 10 гена *MEFV* у жителей Ростовской области - *M694V*, *V726A*, *M680I*, *R761H*, *A744S*, *K695R*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере в рамках программы «У.М.Н.И.К.» на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ грант RFMEFI59414X0002.

Список использованных источников

- 1 Sohar E. Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of literature / Sohar E., Gafni J., Pras M., Heller H. // Am J Med. – 1967. - № 43. – P. 227-253.
- 2 Арутюнян М.В. Периодическая болезнь (этиопатогенетические и клинические аспекты) / Арутюнян М.В., Акопян Г.С. - М.: МИА, 2000. – 304 с.
- 3 Shohat M. Familial Mediterranean fever – A review / Shohat M., Halpern G.J. // Genetics in Medicine. – 2011. – Vol. 13, № 6. – P. 487-498.
- 4 Федоров Е.С. Семейная средиземноморская лихорадка (периодическая болезнь): современный взгляд на проблему / Федоров Е.С., Салугина С.О., Кузьмина Н.Н. // Современная ревматология. – 2013. - № 1. – С. 24-30.
- 5 Booth D.R. The genetic basis of autosomal dominant Familial mediterranean fever / Booth D.R., Gillmore J.D., Lachmann H.J. [et al.]. - QJM: An International Journal of Medicine. – 2000. – Vol. 90, № 4. – P. 217.
- 6 Саркисян Т.Ф. Молекулярная диагностика семейной средиземноморской лихорадки (периодической болезни) среди армян / Саркисян Т.Ф., Айрапетян А.С., Шахсуварян Г.Р., Егиазарян А.Р. // Новый армянский медицинский журнал. – 2007. – Т.1, № 1. – С. 16-23.
- 7 Bakkaloglu A. Familial mediterranean fever / Bakkaloglu A. - Pediatr Nephrol. – 2003. - № 18. – P. 853-859.
- 8 Allen J.N. Colchicine has opposite effects on Il-1b anf TNF alpha production / Allen J.N., Herzyk D.J., Wewers M.D. // Current Opinion in Pharmacology. – 2003. - Vol.3, Issue 4. – P. 204.

- 9 Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis / Siegal S. // *Ann Intern Med.* – 1945. - № 23. – P. 1-21.
- 10 Heller H. Familial Mediterranean fever / Heller H., Sohar E., Sherf L. // *Arch Intern Med.* – 1958. - № 102. – P. 50-71.
- 11 Ehrenfeld E.N. Recurrent polyserositis (familial Mediterranean fever: periodic disease). A report os fifty-five cases / Ehrenfeld E.N. // *Am J Med.* – 1961. - № 31. – P. 107-123.
- 12 Sarkisian T. Molecular Study of FMF Patients in Armenia / Sarkisian T., Ajrapetyan H., Shahsuvaryan G. // *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy.* – 2005. - № 4. – P. 113-116.
- 13 Ong F. The M694V mutation in Armenian-Americans: a 10-year retrospective study of MEFV mutation testing for familial Mediterranean fever at UCLA / Ong F., Vakil H., Xue Y. [et al.] // *Clin Genet.* – 2012. – P. 425-434.
- 14 Dewalle M. Phenotype-genotype correlation in Jewish patients suffering from familial Mediterranean fever (FMF) / Dewalle M., Domingo C., Rozenbaum M., Ben-Chetrit E., Cattan D., Bernot A., Dross C., Dupont M., Notarnicola C., Levy M., Rosner I., Demaille J., Touitou I. // *European Journal of Human Genetics.* – 1998. – Issue 6. – P. 95-97.
- 15 Gunesacar R. Frequency of MEFV gene mutations in Hatay province, Mediterranean region of Turkey and report of a novel missense mutation (I247V) / Gunesacar R., Celik M.M., Arica V., Elmacioglu S., Ozturk O.H. // *Gene.* – 2014. - Volume 546, Issue 2. – P. 195-199.
- 16 Гланц С. Медико-биологическая статистика / Гланц С. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

17 Mkrтчan G.M. Classical pathway complement activity in Familial Mediterranean fever / Mkrтчan G.M., Boyajyan A.S., Yavazyan A.A., Beglaryan A.A. // *Clinical Biochemistry*. – 2006. – Vol. 39, Issue 7. – P. 688–691.

18 Giaglis S. MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever / Giaglis S., Papadopoulos V., Kambas K., Doumas M., Tsironidou V., Rafail S., Kartalis G., Speletas M., Ritis K. // *Clinical Genetics*. – 2007. - № 71. - P. 458-467.