

Биолог. журн. Армении, 1-2 (54), 2002

УДК 617:616-073.1

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ У АРМЯН

А.С. АЙРАПЕТЯН

Центр медицинской генетики НАН РА, 375019, Ереван

Периодическая болезнь - мутации гена MEFV - фенотип - генотип

Генетический скрининг популяций для определения частоты встречаемости рецессивных мутаций является важным профилактическим мероприятием по предупреждению рождения больных детей. С этой точки зрения важное значение имеет выявление некоторых редких рецессивных мутаций, распространенных среди армян. В частности, к таким заболеваниям относится аутосомно-рецессивно наследуемая периодическая болезнь (ПБ), или семейная средиземноморская лихорадка [16, 19]. ПБ чаще всего встречается в популяциях армян, турок, евреев-сефардов и арабов. Одним из наиболее тяжелых осложнений при этой болезни является системный амилоидоз [1, 2, 5].

Ген MEFV, ответственный за развитие ПБ, локализован и картирован на коротком плече 16-й хромосомы и содержит 10 экзонов, охватывающих около 14 кб геномной ДНК. Продуктом гена MEFV является белок – пирин или маренострин, состоящий из 781 аминокислоты. Идентифицировано более двух десятков мутаций и полиморфизмов в экзонах гена MEFV, многие из которых вызывают развитие ПБ. К ним относятся в основном миссенс мутации, приводящие к замене одной аминокислоты на другую [10, 11, 13, 15].

Материал и методика. Скрининг мутаций разных экзонов гена MEFV проведен на геномной ДНК, выделенной из периферической крови больных с подозрением на ПБ, проживающих на территории Армении. Кровь брали из локтевой вены в специальные пробирки с EDTA для предотвращения свертывания крови или деградации ДНК. Параллельно проводили клинико-генеалогический анализ с составлением родословных и последующим молекулярно-генетическим анализом в семьях больных. Для каждого больного заполняли специально разработанную анкету с учетом установленных диагностических критериев [17]. Геномную ДНК выделяли из периферической крови. Для диагностики наследственного заболевания или выявления носителей рецессивных мутаций в гетерозиготном состоянии фрагмент ДНК, содержащий ген MEFV, амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции. Идентификацию генных мутаций, т.е. обнаружение нарушений в первичной нуклеотидной последовательности в образцах ДНК исследуемых больных, проводили с помощью ферментативного рестрикционного анализа.

в этом случае возможна прямая детекция мутаций гена MEFV. Полученные продукты рестрикции определяли методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле.

Результаты и обсуждение. Нами представлено молекулярно-генетическое обследование 1500 больных ПБ и членов их семей, а также 650 здоровых лиц, у которых определены частоты распространения мутаций гена MEFV в армянской популяции. Изучение корреляций между генотипом и фенотипом при ПБ позволило заключить, что разграничение клинических форм заболевания по тяжести и прогнозу наиболее точно может быть обеспечено клинико-генеалогическим и молекулярно-генетическим критериями. Полученные результаты по распределению спектра мутаций гена MEFV подтвердили установленные нами ранее закономерности [2, 3, 11]. В армянской популяции наиболее часто встречаются три мутации: M694V (51,95%), V726A (21,82%), M680I (17,92%). Более редкими являются: R761H (2,71%), E148Q (1,92%), F479L (1,19%), M694I (0,45%), R408Q (0,06%) и некоторые другие [4]. Исходя из полученных результатов по частотам указанных трех мутаций экзона 10, обладающих наибольшей пенетрантностью (M694V, M680I, V726A), можно предположить, что теоретически частота больных среди армян может достигнуть 1:25, что было определено совместно с Национальным Институтом Здоровья США [4, 5]. Согласно полученным данным, генотип MEFV каждого больного в основном представлен двумя мутациями, унаследованными от одного или обоих родителей. Общее число больных ПБ с двумя мутациями (гомозиготы и компаунд-гетерозиготы) составило 696 (1388 независимых аллелей). Из них гомозиготными по мутации M694V оказались 24,57%. Частоты компаунд-гетерозиготных генотипов составили: M694V/V726A - 23,71%; M694V/M680I - 16,24%. При сравнении данных генетического анализа с клиническими проявлениями нами установлена роль мутантного гена в полиморфизме клинического фенотипа и проведено сравнение клинических признаков в подгруппах больных с целью выявления их корреляции с генотипом MEFV. При сопоставлении данных по некоторым наиболее характерным симптомам заболевания были выявлены следующие достоверные различия. У больных с генотипом M680I/M680I повышение температуры наблюдается в 2 раза чаще по сравнению с другими генотипами. У больных с гетерозиготным генотипом V726A/M680I реже наблюдается абдоминалгия по сравнению с другими группами пациентов. Кожные высыпания встречаются чаще у гомозигот M694V/M694V. Спленомегалия чаще встречается у гомозигот M694V/M694V.

Согласно полученным результатам, у 64,6% больных ПБ с амилоидозом почек наблюдается высокая частота аллели M694V. Среди них обнаружен наиболее характерный гомозиготный генотип по мутации M694V (22,2%, $P < 0.01$). У гомозигот по мутации M694V чаще наблюдается артрит (56,3%, $P < 0.01$) в сравнении с больными с другим генотипом [2, 3]. Это различие является достоверным при сравнении гомозигот по M694V с компаунд-гетерозиготами по наиболее часто встречающимся мутациям среди армян, к которым относятся компаунд-гетерозиготы M694V/V726A и M694V/M680I ($P < 0.01$).

Представленное исследование свидетельствует о целесообразности

проведения молекулярно-генетического анализа для подтверждения диагноза ПБ и ранней диагностики заболевания. Впервые предлагается способ прогнозирования тяжелейшего осложнения ПБ, к которому относится амилоидоз почек.

Таким образом, на примере ПБ демонстрируется возможность молекулярной диагностики моногенных наследственных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bernot A., Silva C. da , Dode C., Touitou I. et al. Hum. Mol. Genet, 7, 1317-1325, 1998.
2. Cazeneuve C., Sarkisian T., Ajrapetyan H., Amselem S. et al. Am. J. Hum. Genet., 65:88-97, 1999.
3. Cazeneuve C., Sarkisian T., Ajrapetyan H., Babloyan A., Sarkisian A., Papazian M., Amselem S. et al. Am. J. Hum. Genet., 67, 1136-1143, 2000.
4. Centola M., Wood G., Frucht D.M., Kastner D. Blood, 95, 10,3223-3231, 2000.
5. Chae J.J., Centola M., Aksentijevich I., Kastner D. et al. Mammalian Genome, 11, 428-435, 2000.
6. The French FMF Consortium, Nat. Genet, 17, 25-31, 1997.
7. Gasperini S., Marchi M., Calzetti F. et al. J.Immunol.,162, 4928,1999.
8. The International FMF Consortium, Cell, 90,797-807, 1997.
9. Kastner D.L. Molecular Genetics in Clinical Practice, XIII, 1-14, 1999.
10. Livneh A., Langevitz P., Zemer D. et al. In: 2nd Conference of FMF, Antalia, 185-186, 2000.
11. Torosyan Y., Aksentijevich I., Sarkisian T., Ajrapetyan H., Amaryan G., Astvatsatryan V., Kastner D. Am. J. Hum. Genet, 67, 4-2265, 2000.

Поступила 12.X.2001