

Фенотип пациентов с комплексным аллелем s466x-r1070q при муковисцидозе в Российской Федерации

Е.И.Кондратьева^{1,2}, Н.В.Петрова¹, С.А.Красовский^{1,2,4}, Н.Ю.Каширская¹, С.И.Куцев¹, Е.К.Гинтер¹, А.В.Поляков¹, Е.Л.Амелина³, А.Ю.Воронкова^{1,2}, В.Д.Шерман^{1,2}, А.В.Черняк³, Р.А.Зинченко¹

- 1 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»: 115478, Москва, ул. Москворечье, 1;
- 2 – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной консультативный центр для детей»: 141007, Московская область, Мытищи, ул. Коминтерна, 24А, стр. 1;
- 3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»: 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28;
- 4 – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени Д.Д.Плетнева Департамента здравоохранения города Москвы»: 105077, Москва, ул. 11-я Парковая, 32

Информация об авторах

Кондратьева Елена Ивановна – д. м. н., профессор, руководитель научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; заведующая отделением муковисцидоза Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной консультативный центр для детей»; тел.: (495)587-33-66; e-mail: elenafpk@mail.ru

Петрова Ника Валентиновна – д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; тел.: (499) 320-60-90; e-mail: npetrova63@mail.ru

Красовский Станислав Александрович – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории муковисцидоза Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»; врач-пульмонолог 2-го пульмонологического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени Д.Д.Плетнева Департамента здравоохранения города Москвы»; старший научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; тел.: (495) 965-23-24; e-mail: sa_krasovsky@mail.ru

Каширская Наталия Юрьевна – д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; тел.: (499) 320-60-90; e-mail: kashirskayanj@mail.ru

Куцев Сергей Иванович – д. м. н., профессор, член-корреспондент Российской академии наук, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр», главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Российской Федерации по медицинской генетике; тел.: (499) 612-86-07; e-mail: kutsev@mail.ru

Гинтер Евгений Константинович – д. б. н., академик Российской академии наук, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; тел.: (499) 612-87-63; e-mail: ekginter@mail.ru

Поляков Александр Владимирович – д. б. н., профессор, заведующий лабораторией ДНК-диагностики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; тел.: (499) 324-87-72; e-mail: apol@dnalab.ru

Амелина Елена Львовна – к. м. н., заведующая лабораторией муковисцидоза Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»; тел.: (499) 780-08-06; e-mail: eamelina@mail.ru

Воронкова Анна Юрьевна – к. м. н., старший научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр», врач-педиатр Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной консультативный центр для детей»; тел.: (495) 587-33-66; e-mail: voronkova11@yandex.ru

Шерман Виктория Давидовна – к. м. н., старший научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр», врач-педиатр Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной консультативный центр для детей»; тел.: (495) 587-33-66; e-mail: tovika@yandex.ru

Черняк Александр Владимирович – к. м. н., заведующий лабораторией функциональных и ультразвуковых методов исследования Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»; тел.: (495) 465-53-84; e-mail: achi2000@mail.ru

Зинченко Рена Абулфазовна – д. м. н., профессор, заместитель директора по научно-клинической работе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»; тел.: (499) 324-12-24; e-mail: renazinchenko@mail.ru

Резюме

Оценка вклада в развитие муковисцидоза (МВ) редких и ранее не идентифицированных мутаций, а также определение связи генотип–фенотип и влияния генов-модификаторов на тяжесть течения представляет значительный интерес. В последние годы у ряда российских пациентов выявлено носительство комплексного аллеля S466X-R1070Q. Описанию фенотипических проявлений данного комплексного аллеля посвящено ограниченное число работ. **Целью** данного исследования явилось изучение фенотипических проявлений МВ у носителей комплексного аллеля S466X(TGA)-R1070Q на основе данных регистра больных муковисцидозом (Российская Федерация, 2014). **Материалы и методы.** Проанализированы данные Национального регистра больных муковисцидозом (2014), в который включены показатели пациентов ($n = 2\ 131$) из 74 регионов. Комплексный аллель S466X-R1070Q отмечен в 17 случаях (основная группа), мутация F508del в гомозиготном состоянии – в 170 (группа сравнения). Группы не различались по возрасту диагностики заболевания и полу. Проведен сравнительный анализ между группами по различным клинико-функциональным и микробиологическим параметрам, характеризующим основное заболевание, оценены различия в выживаемости между группами. **Результаты.** При изучении показателей потового теста выявлено, что в основной группе уровень хлоридов пота оказался выше, чем в группе сравнения (116,53 ммоль / л vs 102,2 ммоль / л; $p = 0,0341$). В общей группе с комплексным аллелем число умерших составило 11,77 % vs 3,53 % в группе гомозигот F508del ($p = 0,159$). Кроме того, по результатам анализа показано отсутствие достоверных различий функции выживания между сравниваемыми группами ($p = 0,058$). Объем форсированного выдоха за 1-ю секунду был выше в основной группе – $84,69 \pm 17,85$ %_{дож.} vs $64,95 \pm 27,16$ %_{дож.} в группе сравнения ($p = 0,0483$). Пациенты также не различались по показателям перцентилей роста, массы тела и индекса массы тела. Амилоидоз и пневмоторакс отсутствовали в группе пациентов с S466X(TGA)-R1070Q, но наблюдались у лиц группы сравнения. Полипы встречались у 19 (11,17 %) больных с генотипом F508del/F508del и отсутствовали в основной группе. Сахарный диабет и цирроз печени выявлены в группах наблюдения с одинаковой частотой; остеопороз в группе сравнения отмечен у 10 % больных и у 1 (5,88 %) пациента основной группы. Группы не различались по частоте хронической и интермиттирующей инфекции *Pseudomonas aeruginosa*, хронической инфекции *Staphylococcus aureus*, однако в основной группе чаще наблюдалась *Burkholderia cepacia complex* – у 23,52 % vs 10,58 % больных в группе сравнения; *Stenotrophomonas maltophilia* – у 11,76 % vs 2,35 % соответственно.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что комплексный аллель S466X(TGA)-R1070Q проявляет свойства мутаций I класса, следовательно, его можно отнести к «тяжелым» мутациям.

Ключевые слова: генетика, муковисцидоз, ген *CFTR*, комплексный аллель, S466X-R1070Q.

Для цитирования: Кондратьева Е.И., Петрова Н.В., Красовский С.А., Каширская Н.Ю., Куцев С.И., Гинтер Е.К., Поляков А.В., Амелина Е.Л., Воронкова А.Ю., Шерман В.Д., Черняк А.В., Зинченко Р.А. Фенотип пациентов с комплексным аллелем s466x-r1070q при муковисцидозе в Российской Федерации. *Пульмонология*. 2017; 27 (6): 695–703. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-6-695-703

Cystic fibrosis phenotype with the complex allele s466x-r1070q in Russian Federation

Elena I. Kondrat'eva^{1,2}, *Nika V. Petrova*¹, *Stanislav A. Krasovskiy*^{1,3,4}, *Nataliya Yu. Kashirskaya*¹, *Sergey I. Kutsev*¹, *Evgeniy K. Ginter*¹, *Aleksandr V. Polyakov*¹, *Elena L. Amelina*³, *Anna Yu. Voronkova*^{1,2}, *Viktoriya D. Sherman*^{1,2}, *Aleksandr V. Chernyak*³, *Rena A. Zinchenko*¹

1 – Federal Medical Genetic Academic Center, Russian Academy of Science: ul. Moskvorech'e 1, Moscow, 1115478, Russia;

2 – Moscow Regional State Referral Center for Children: ul. Kominterny 24A, build.1, Mytishchi of Moscow Region, 1141007, Russia;

3 – Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia: Orekhovyy bul. 28, Moscow, 115682, Russia;

4 – D.D.Pletnev City Teaching Hospital, Moscow Healthcare Department: ul. Odinnadtsataya Parkovaya 32, Moscow, 105077, Russia

Author information

Elena I. Kondrat'eva, Doctor of Medicine, Professor, Head of Research and Clinical Division of Cystic Fibrosis, Federal Medical Genetic Academic Center, Head of Department of Cystic Fibrosis, Moscow Regional State Referral Center for Children; tel.: (495)587-33-66; e-mail: elenafpk@mail.ru

Nika V. Petrova, Doctor of Biology, Chief Scientist, Laboratory of Genetic Epidemiology, Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (499) 320-60-90; e-mail: npetrova63@mail.ru

Stanislav A. Krasovskiy, Candidate of Medicine, Senior Researcher at Laboratory of Cystic Fibrosis, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; pneumologist at the 2nd Pulmonology Department, D.D.Pletnev City Teaching Hospital, Moscow Healthcare Department; Senior Researcher at Research and Clinical Division of Cystic Fibrosis, Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (495) 965-23-24; e-mail: sa_krasovskiy@mail.ru

Nataliya Yu. Kashirskaya, Doctor of Medicine, Professor, Principal Researcher, Laboratory of Genetic Epidemiology, Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (499) 320-60-90; e-mail: kashirskayanj@mail.ru

Sergey I. Kutsev, Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Science, Director of Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (499) 612-86-07; e-mail: kutsev@mail.ru

Evgeniy K. Ginter, Doctor of Biology, Academician of Russian Academy of Science, Academic Advisor of Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (499) 612-87-63; e-mail: ekginter@mail.ru

Aleksandr V. Polyakov, Doctor of Biology, Professor, Head of DNA Diagnostic Laboratory, Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (499) 324-87-72; e-mail: apol@dnalab.ru

Elena L. Amelina, Candidate of Medicine, Head of Laboratory of Cystic Fibrosis, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: (499) 780-08-06; e-mail: eamelina@mail.ru

Anna Yu. Voronkova, Candidate of Medicine, Senior Researcher, Research and Clinical Division of Cystic Fibrosis, Federal Medical Genetic Academic Center; pediatrician at Moscow Regional State Referral Center for Children; tel.: (495) 587-33-66; e-mail: voronkova111@yandex.ru

Viktoriya D. Sherman, Candidate of Medicine, Senior Researcher, Research and Clinical Division of Cystic Fibrosis, Federal Medical Genetic Academic Center; pediatrician at Moscow Regional State Referral Center for Children; tel.: (495) 587-33-66; e-mail: tovika@yandex.ru

Aleksandr V. Chernyak, Candidate of Medicine, Head of Laboratory of Functional and Ultra-sound Investigations; Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: (495) 465-53-84 e-mail: achi2000@mail.ru

Rena A. Zinchenko, Doctor of Medicine, Professor, Deputy Director for Science and Clinical Care, Federal Medical Genetic Academic Center; tel.: (499) 324-12-24; e-mail: renazinchenko@mail.ru

Abstract

The aim of this study was to investigate phenotypic features of cystic fibrosis (CF) in patients carrying the complex allele S466X(TGA)-R1070Q. **Methods.** Data from CF register of Russian Federation, 2014, were used. The Russian CF register includes data of 2,131 patients from 74 regions of Russian Federation. The complex allele S466X(TGA)-R1070Q was found in 17 patients (the study group) and homozygous F508del mutation was found in 170 patients (the control group). The groups did not differ in main clinical, functional and microbiological parameters. Survival was also investigated. **Results.** Sweat chloride concentration was higher in the study group patients compared to the control group (116.53 mmol/L vs 102.2 mmol/L; $p = 0.0341$). There were 11.77% of deaths in a combined group of patients with the complex allele vs 3.53% in homozygous F508del mutation group ($p = 0.159$). Moreover, no significant difference in survival was found between the groups ($p = 0.058$). FEV₁ was higher in the study group ($84.69 \pm 17.85\%$ _{pred} vs $64.95 \pm 27.16\%$ _{pred} in the control group; $p = 0.0483$). Patients did not differ significantly in percentiles of height, weight, and body mass index. Amyloidosis and pneumothorax were seen in the control group, but not in patients with the complex allele S466X(TGA)-R1070Q. Polyps were diagnosed in 19 (11.17%) of patients with F508del/F508del genotype and were not found in the study group patients. Prevalence of diabetes mellitus and hepatic cirrhosis was similar in both the groups. Osteoporosis was diagnosed in 10% of control patients and in one (5.88%) of the study group patients. Chronic or intermitted *Pseudomonas aeruginosa* infection and chronic infection of *Staphylococcus aureus* were equally seen in both the groups, but *Burkholderia cepacia* complex and *Stenotrophomonas maltophilia* were found more often in the study group patients compared to controls (23.52% vs 10.58% and 11.76% vs 2.35%, respectively). **Conclusion.** The results of this study confirmed that the complex allele S466X(TGA)-R1070Q has properties of class I mutation and should be considered as a “severe” mutation.

Key words: genetics, cystic fibrosis, CFTR gene, complex allele, S466X-R1070Q.

For citation: Kondrat'eva E.I., Petrova N.V., Krasovskiy S.A., Kashirskaya N.Yu., Kutsev S.I., Ginter E.K., Polyakov A.V., Amelina E.L., Voronkova A.Yu., Sherman V.D., Chernyak A.V., Zinchenko R.A. Cystic fibrosis phenotype with the complex allele s466x-r1070q in Russian Federation. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (6): 695–703 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-6-695-703

Муковисцидоз (МВ) — частое моногенное заболевание, обусловленное мутациями гена *CFTR* (ABCC7). Ген *CFTR* содержит 27 экзонов и расположен в регионе 31.1 длинного плеча 7-й хромосомы (7q31.1). Значительные достижения в развитии методов и технологий молекулярно-генетического тестирования позволяют в большинстве случаев успешно осуществлять молекулярно-генетическую диагностику МВ. Наибольшую трудность в настоящий момент представляет оценка вклада в развитие заболевания редких и ранее не идентифицированных мутаций, а также определение связи генотип—фенотип и влияния генов-модификаторов на тяжесть заболевания [1].

Мутации I—III классов, при которых белок CFTR практически полностью отсутствует на апикальной мембране, либо его функция полностью нарушена, относятся к «тяжелым» и приводят к существенным нарушениям внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Мутации IV и V классов, при которых сохраняется остаточная функция хлорного канала, относятся к «мягким» [2–4].

Сочетание в генотипе 2 «тяжелых» в отношении нарушения функции поджелудочной железы мутаций (например, F508del) в гомозиготном или компаундном состоянии приводит к панкреатической недостаточности, тогда как наличие одной «тяжелой» и одной «мягкой» или двух «мягких» мутаций чаще встречается у больных с сохраненной остаточной функцией поджелудочной железы. «Мягкие» мутации доминируют над «тяжелыми» в отношении панкреатического фенотипа [3, 5].

В постоянно обновляемой базе данных¹ Консорциума по генетическому анализу МВ (*Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium*) представлено > 2 000 вариантов нуклеотидной последовательности, выявленных в гене *CFTR*. Только часть из них напрямую связана с развитием заболевания^{2, 3}. Наиболее распространенной мутацией гена *CFTR* является F508del, ранее обозначаемая как $\delta F508$. По имеющимся данным, ее частота составляет > 65 % в объединенной мировой выборке обследованных больных МВ.

В России наиболее частой мутацией также является F508del, составляющая около 52 % общего числа мутантных аллелей в объединенной выборке больных МВ [1]. Ее частота составляет широкие пределы — от 20 до 60 % в зависимости от региона. К настоящему времени у российских пациентов с МВ выявлено 156 различных мутантных аллелей гена *CFTR* [6], большинство из которых являются весьма редкими; 10 наиболее частых мутаций у российских больных составляют 71,22 % всех мутантных аллелей [7].

Информация о частоте в различных популяциях и фенотипических проявлениях редких мутаций систематизирована в национальном и европейском регистрах МВ. Фенотипические проявления комплексного аллеля с.[1397C>G; 3209C>A] (S466X-R1070Q) у пациентов с МВ продолжает изучаться в разных популяциях. В базах данных мутаций в гене *CFTR* (*CFTR mutation database*; *CFTR1* и *CFTR2*) мутации S466X и R1070Q описаны как отдельные: мутация S466X (p.Ser466X, c.1397C>G) — как приводящая к МВ (относится к мутациям I класса); R1070Q (p.Arg1070Gln, c.3209C>A), относящаяся к мутациям IV класса, рассматривается как мутация с переменным клиническим проявлением.

Мутация S466X представляет собой замену нуклеотида в 1397-м положении, приводящую к образованию преждевременного стоп-кодона в положении 466 вместо кодона TCA (серин). Формирование стоп-кодона может происходить в результате 2 замен нуклеотида 1397C в данном триplete: с.1397C>A и с.1397C>G с образованием мутаций S466X(TAA) и S466X(TGA) соответственно. В базах данных мутаций в гене *CFTR* (*CFTR mutation database*; *CFTR1* и *CFTR2*) представлены оба генетических варианта. У российских пациентов с МВ во всех случаях выявлен вариант S466X(TGA) (с.1397C>G; p.Ser466*) (рис. 1).

Мутации, приводящие к замене аргинина в кодоне 1070 (R1070), ассоциированы с различными по тяжести клиническими фенотипами (от мужского бесплодия до классической формы с панкреатической недостаточностью). Аргинин в положении 1070

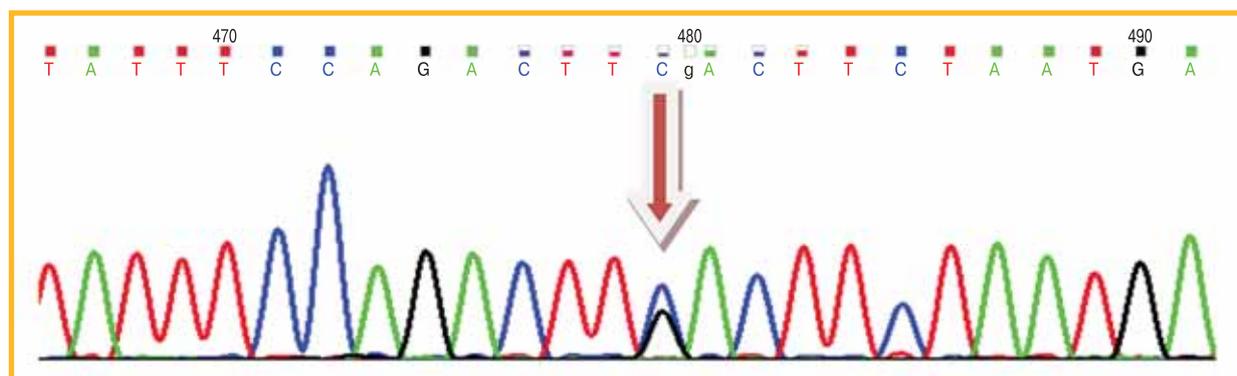


Рис. 1. Хроматограмма результата секвенирования фрагмента 11-го (10-го) экзона гена *CFTR*
Figure 1. Chromatogram of fragment sequencing of *CFTR* exon 11 (10)

¹ <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>

² <http://www.cfr2.org>

³ <http://seqdb.med-gen.ru/>

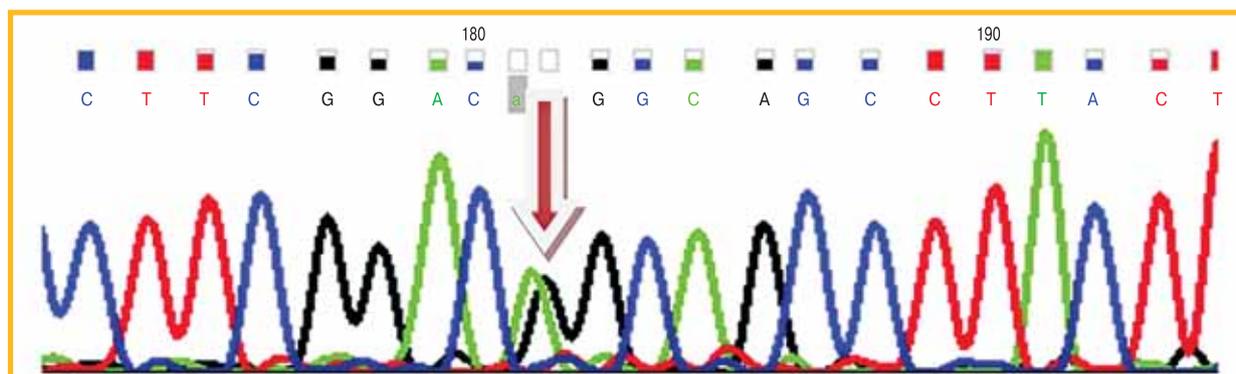


Рис. 2. Хроматограмма результата секвенирования фрагмента 20-го (17b) экзона гена *CFTR*
Figure 2. Chromatogram of fragment sequencing of a of *CFTR* exon 20 (17b)

находится в центре цитоплазматической петли 4 – большого кластера эволюционно консервативной области аминокислотной последовательности белка *CFTR*. Описаны 3 миссенс-мутации в кодоне 1070: R1070W (с.3208C>T; p.Arg1070Trp) приводит к МВ с сохранной функцией поджелудочной железы или врожденному двустороннему отсутствию семявыносящих протоков с нормальной продолжительностью жизни пациентов; R1070Q (с.3209G>A; p.Arg1070Gln) (рис. 2) и R1070P (с.3209G>C; p.Arg1070Pro) выявлены у больных с тяжелыми фенотипическими проявлениями [8].

В дальнейших в исследованиях показано, что присутствие мутации S466X(TGA) в цис-положении с мутацией R1070Q ассоциировано с классической формой МВ с панкреатической недостаточностью, тогда как носительство только мутации R1070Q (в транс-положении с вызывающей МВ мутацией) предрасполагает к мягкому течению МВ (например, врожденное отсутствие семявыносящих протоков), в то время как присутствие в цис-положении мутации S466X(TGA) ассоциировано с классической формой МВ с панкреатической недостаточностью [8, 9].

Поскольку мутация S466X (TGA) приводит к нарушению синтеза белка *CFTR* и располагается ближе к 5' концу гена, чем мутация R1070Q, можно предполагать, что функция комплексного аллеля S466X(TGA)-R1070Q определяется мутацией S466X(TGA), т. е. данная комбинация является мутацией, нарушающей синтез белка [10–12]. В российском национальном регистре (2011) мутация S466X(TGA) была на 16-м месте среди 72 мутаций, ее доля составляла 0,32 % аллельной частоты мутаций больных РФ. Генетическое исследование в этот год проведено у 942 больных (91,8 % общего числа). В 2014 г. она сохранила прежнее место среди 120 мутаций, выявленных у пациентов с МВ в стране (0,37 % всех мутаций). Генетическое исследование проведено у 2 131 больного (89,0 % включенных в регистр, 2014). Данные свидетельствуют о том, что мутация S466X(TGA) входит в 30 наиболее часто встречающихся мутаций у российских больных МВ, а ее фенотипические особенности в связи с накоплением клиничко-лабораторных и инструментальных данных, характеризующих показатели здоровья пациентов, представляют практический интерес.

Следует отметить, что во всех случаях мутация S466X(TGA) находилась в цис-положении с мутацией R1070Q, составляя комплексный аллель. При этом изучение фенотипических проявлений мутации S466X(TGA) (p.Ser466X, с.1397C>G) в цис-сочетании с R1070Q (p.Arg1070Gln, с.3209C>A) при МВ имеет большое значение для клинической практики с целью понимания течения заболевания и его прогнозирования.

Целью исследования явилось изучение фенотипических проявлений МВ у пациентов-носителей комплексного аллеля S466X(TGA)-R1070Q на основе данных российского регистра (2014).

Материалы и методы

Использованы данные национального регистра (2014), в который включены показатели больных ($n = 2\ 131; 2\ 092$ – живые; 39 – умершие) из 74 регионов – пациенты из 30 регионов России с имеющимися центрами МВ ($n = 1\ 847$), а также из 44 регионов ($n = 284$). Формат регистра соответствовал европейскому регистру больных МВ.

Проанализированы возраст пациента при последнем осмотре, возраст постановки диагноза, показатели потового теста (хлориды пота; ммоль / л), индекса массы тела (ИМТ; кг / м²), хронической колонизации бронхолегочной системы микроорганизмами (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, *Achromobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, нетуберкулезные микобактерии, грамотрицательная микрофлора), панкреатической недостаточности (фекальная эластаза-1 (< 200 мг / г), нейтральный жир в копрограмме), данные спирометрии (объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁; %_{долж.}) и форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ; %_{долж.})), а также данные об осложнениях (мекониевый илеус, цирроз печени (\pm гипертензия), МВ-ассоциированный сахарный диабет (МВЗСД), аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА), полипы носа).

Комплексный аллель S466X-R1070Q выявлен у пациентов ($n = 17$; 8 взрослых) 1-й группы, мутация F508del в гомозиготном состоянии – у больных 2-й группы ($n = 170$); последняя выбрана как группа сравнения. Исследование фенотипических

взаимосвязей групп с комплексным аллелем S466X-R1070Q и пациентов с мутацией F508del в гомозиготном состоянии проводились как в общей группе больных (дети и взрослые), так и среди взрослых. Названия мутаций в дальнейшем приведены согласно традиционной номенклатуре.

Статистический анализ выполнен с использованием программы *Statistica 8.0*. Статистическая обработка результатов выполнена методами описательной статистики с применением пакета прикладных программ *Statistica 10*. (*Stat Soft Inc.*, США). Данные анализировались на соответствие распределения значений изучаемого признака закону нормального распределения: статистический анализ проводился с использованием t-критерия Стьюдента (для параметрических параметров) или теста Манна–Уитни (для непараметрических параметров). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее значение (M) \pm стандартное отклонение (SD). Оценка выживаемости проводилась методом Каплана–Майера.

Результаты и обсуждение

Проведен анализ частоты аллелей и генотипов пациентов-носителей комплексного варианта S466X(TGA)-R1070Q и мутации F508del в регистре (2014). Аллель S466X(TGA)-R1070Q обнаружен у 17 пациентов, его частота составила 0,37 %. В 1-й группе с комплексным аллелем S466X(TGA)-R1070Q у 16 из 17 пациентов аллель обнаружен в компаунд-гетерозиготном

состоянии с другими мутациями: F508del ($n = 5$); CFTRdele2,3 ($n = 3$); 3849+10kbC>T ($n = 2$); R785X ($n = 2$); 1898+3A>G ($n = 1$); 2143delT ($n = 1$); N1303K ($n = 1$); в 2 случаях 2-я мутация не обнаружена (табл. 1). При изучении частоты аллеля F508del и включающих его генотипов в регистре (2014) показано, что в Российской Федерации доля гомозигот по F508del составила 170 (28,3 %) случаев, гетерозигот – 46,5 %, генотипов без F508del – 25,2 %. Частота аллеля F508del составила 51,53 %.

Проведено сравнение клинико-лабораторных показателей пациентов 1-й (аллель S466X-R1070Q) и 2-й (гомозиготы по F508del) групп. Группу с комплексным аллелем ($n = 17$) составили 9 детей, 8 взрослых (9 женщин, 8 мужчин); группу сравнения ($n = 170$) – 102 ребенка, 68 взрослых (82 женщины, 88 мужчин). Пациенты обеих групп (дети и взрослые) были сопоставимы по полу и возрасту (табл. 2). Однако средний возраст взрослых пациентов с мутацией S466X ($21,58 \pm 4,08$ года) был меньше, чем во 2-й группе ($24,90 \pm 4,45$ года) ($p = 0,0433$). Возраст взрослых пациентов 2-й группы (гомозиготы по F508del) был выше такового в 1-й группе ($p = 0,0433$), а возраст постановки диагноза МВ в группах – одинаков. Показатели хлоридов пота у больных 1-й группы были более высокими по сравнению с таковыми во 2-й группе ($116,53$ ммоль / л vs $102,2$ ммоль / л; $p = 0,0341$); в группе взрослых с комплексным аллелем и носителей генотипа F508del/F508del отличия недостоверны.

Число умерших в группе взрослых с комплексным аллелем составило 2 (25 %) vs 6 (8,82 %) в группе гомозигот F508del ($p = 0,0092$). В общей группе больных (дети и взрослые) с комплексным аллелем число умерших составило 11,77 % vs 3,53 % в группе гомозигот F508del ($p = 0,159$). Кроме того, по результатам анализа показано отсутствие достоверных различий функции выживаемости между сравниваемыми группами ($F(24, 4) = 5,306$; $p = 0,058$), где F – критерий Кокса (рис. 3).

У 3 (17,64 %) пациентов 1-й группы с «мягкими» мутациями в транс-положении (3849+10kbC->T) ($n = 2$) и 1898+3A>G ($n = 1$) установлена сохранная экзокринная функция поджелудочной железы. Панкреатическая недостаточность зарегистрирована у 14 (82,35 %) больных 1-й группы.

Таблица 1
Генотипы больных с комплексным аллелем S466X-R1070Q
Table 1
Genotypes of patients with the complex allele S466X-R1070Q

Генотип	Число пациентов
S466X(TGA)-R1070Q/F508del	5
S466X(TGA)-R1070Q/CFTRdele2,3	3
S466X(TGA)-R1070Q/3849+10kbC>T	2
S466X(TGA)-R1070Q/R785X	2
S466X(TGA)-R1070Q/2143delT	1
S466X(TGA)-R1070Q/N1303K	1
S466X(TGA)-R1070Q/1898+3A>G	1
S466X(TGA)-R1070Q/неизвестна	2

Таблица 2
Характеристика групп наблюдения
Table 2
Characteristics of patients' groups

Признак	Взрослые ($m \pm SD$)		Все ($m \pm SD$)	
	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del
Число больных, n	8	68	17	170
Возраст, годы	$21,58 \pm 2,78$	$24,90 \pm 4,45$	$13,04 \pm 9,33$	$14,64 \pm 9,67$
p	0,0433			
Женщины / мужчины, n (%)	4 (50) / 4 (50)	32 (47) / 36 (53)	9 (53) / 8 (47)	82 (48) / 88 (52)
Возраст постановки диагноза, годы	$5,04 \pm 5,04$	$4,78 \pm 6,06$	$3,40 \pm 5,07$	$2,64 \pm 4,50$
Диагноз установлен по неонатальному скринингу, %	–	–	29,4	33,5
Хлориды пота, ммоль / л	$113,43 \pm 29,21$	$106,70 \pm 30,16$	$116,53 \pm 21,31$	$102,2 \pm 25,78$
p	–			
			0,034	

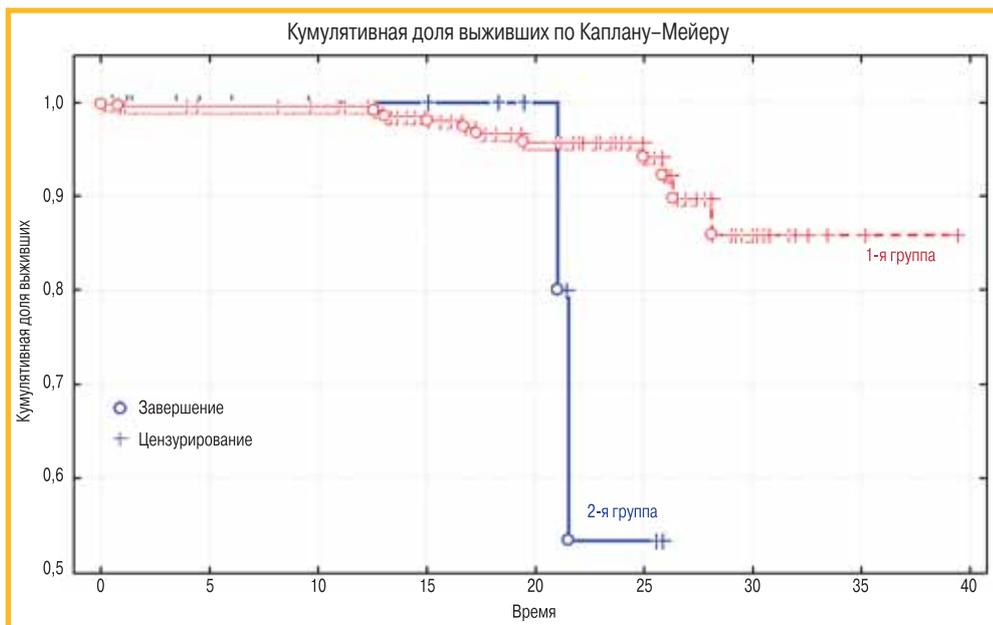


Рис. 3. Множительная оценка выживания методом Каплана–Мейера
 Примечание: 1-я группа – пациенты с генотипом S466X(TGA)-R1070Q/mut, 2-я группа – F508del/F508del.
 Figure 3. The Kaplan–Meier product-limit estimate of survival
 Note. The first group included patients with S466X(TGA)-R1070Q/mut genotype and the second group included patients with F508del/F508del genotype.

Таблица 3
 Показатели спирометрии и нутритивного статуса в группах наблюдения
 Table 3
 Spirometry and nutritional status in the groups

Признак	Взрослые (<i>m ± SD</i>)		Общая группа* (<i>m ± SD</i>)	
	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del
ОФВ ₁ , %	82,15 ± 19,64	57,14 ± 24,94	84,69 ± 17,85	64,95 ± 27,16
<i>p</i>	0,0221		0,0483	
ФЖЕЛ, %	89,84 ± 10,59	78,89 ± 21,82	90,67 ± 10,03	82,33 ± 22,92
ИМТ	20,22 ± 3,19	18,76 ± 2,61	18,17 ± 3,13	17,25 ± 2,51

Примечание: * – общую группу составляли дети и взрослые; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; ИМТ – индекс массы тела.
 Note. *, the combined group included children and adults.

Функция легких (ОФВ₁) была выше в 1-й группе по сравнению со 2-й – 84,69 % vs 64,95 % (*p* = 0,0483), такая же ситуация отмечена у взрослых (*p* = 0,0221). В отношении ФЖЕЛ достоверно значимых отличий между группами не обнаружено (табл. 3). Не различались пациенты по показателям перцентилей роста, массы тела и ИМТ.

Амилоидоз и пневмоторакс отсутствовали в группе пациентов с S466X(TGA)-R1070Q, но наблю-

дались во 2-й группе. Полипы встречались у 19 (11,17 %) больных МВ с генотипом F508del/F508del и отсутствовали в 1-й группе. МВЗСД и цирроз печени встречались в группах наблюдения с одинаковой частотой; остеопороз во 2-й группе отмечен в 10 % случаев и у 1 (5,88 %) больного группы S466X(TGA)-R1070Q (табл. 4).

По результатам анализа бактериальных патогенов дыхательной системы в 1-й и 2-й группах показано

Таблица 4
 Характеристика осложнений в общих группах (дети и взрослые); *n* (%)
 Table 4
 Complications in combined groups (children and adults); *n* (%)

Признак	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del
Остеопороз	1 (5,88)	17 (10)
МВЗСД	2 (11,76)	15 (8,82)
Цирроз печени	2 (11,76)	21 (12,35)
Полипоз носа	0	19 (11,17)
Пневмоторакс	0	2 (1,17)
Кровохарканье	1 (5,88)	4 (2,35)
АБЛА	0	3 (1,76)

Примечание: МВЗСД – муковисцидоз-ассоциированный сахарный диабет; АБЛА – аллергический бронхолегочный аспергиллез.

Таблица 5
 Общая характеристика микробного пейзажа в общих группах наблюдения (дети и взрослые); *n* (%)
 Table 5
 Common characteristics of microflora in combined groups (children and adults); *n* (%)

Признак	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del
Хроническая <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 (23,52)	46 (27,05)
Интермиттирующая <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (5,88)	26 (16,47)
Хроническая <i>Staphylococcus aureus</i>	10 (58,82)	105 (61,76)
Микобактерии	1 (5,88)	2 (1,17)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (11,76)	4 (2,35)
<i>Burkholderia cepacia complex</i>	4 (23,52)	18 (10,58)

отсутствие различий по частоте следующих инфекций дыхательных путей – хронической и интермиттирующей *P. aeruginosa*, хронической *S. aureus*; чаще наблюдалась *B. cepacia complex* – 23,52 % vs 10,58 % и *S. maltophilia* – 11,76 % vs 2,35 % соответственно (табл. 5).

Показано, что группы наблюдения не различались по антибактериальной, ингаляционной терапии, использованию глюкокортикостероидов (ГКС), кислородотерапии, препаратов урсодезоксихолевой кислоты. Во 2-й группе все больные получали панкреатические ферменты и чаще – витамины, в 1-й – противовоспалительную терапию в виде азитромицина (табл. 6).

В настоящее время у части пациентов с МВ и *CFTR*-связанными нарушениями установлены комплексные аллели, т. е. ген *CFTR* имеет ≥ 2 функциональных повреждений ДНК в цис-положении, что можно выявить при проведении сегрегационного анализа у родителей. Диагноз устанавливается при обнаружении патогенной мутации гена в транс-положении в дополнение к 2 мутациям, идентифицированным в цис-положении. Известно, что для генетических особенностей врожденного двустороннего отсутствия семявыносящих протоков (ВДОСП) характерно наличие полиморфизма 8-го интрона гена *CFTR* с аллелями 5Т, 7Т и 9Т. Аллели 7Т и 9Т функционально нейтральны, а аллель 5Т препятствует сплайсингу мРНК *CFTR*. Значительное количество мРНК лишается экзона 9 и способности транслироваться в активный белок *CFTR*. С функциональной точки зрения присутствие аллели 5Т эквивалентно «мягкой» мутации. Принято считать, что лица с классическим МВ являются носителями двух «тяжелых» мутаций гена белка *CFTR*. У мужчин с ВДОСП в европейских популяциях наиболее распространенными являются 2 компаундных гетерозиготных генотипа: мутация F508del в транс-положении с вариантом IVS8-5Т (28 %) или с мутацией R117H (6 %). Для ВДОСП характерно сочетание мутации R117H с аллелями IVS8-5Т и IVS8-7Т в цис-положении (комплексные аллели – R117H-5Т и R117H-7Т). Комплексный аллель R117H-5Т часто встречается у пациентов с МВ, в то время как аллель R117H-7Т, как правило, не связан с МВ [1]. Аналогично представляет интерес исследование других комплексных аллелей.

На примере больных МВ, включенных в регистр Российской Федерации, описаны фенотипические проявления комплексного аллеля S466X(TGA)-R1070Q, соединяющего мутацию S466X (I класс) и R1070Q (IV класс). Мутация S466X(TGA) распространена в Турции, Греции, Иране и Индии [13–15]. В Сербии она входит в число 6 частых мутаций, составляя около 0,5 % всех аллелей, в Греции – 0,4 %. В нашей стране S466X(TGA)-R1070Q занимает 16-е место (0,37 %).

По результатам исследования показано, что в сравнении с гомозиготами по мутации F508del больные с комплексным аллелем S466X(TGA)-R1070Q характеризовались следующими особенно-

стями: возраст взрослых пациентов с аллелем S466X(TGA)-R1070Q был меньше, чем в группе взрослых пациентов-гомозигот по F508del (однако нельзя исключить, что это может быть связано с малочисленностью 1-й группы). Группы не различались по возрасту диагностики заболевания и полу. Число летальных исходов в 2014 г. в общей группе с комплексным аллелем составило 11,77 % vs 3,53 % в группе гомозигот по F508del (различия недостоверны; $p = 0,158$), в группе взрослых – 25 % с аллелем S466X(TGA)-R1070Q vs 8,82 % – в группе гомозигот F508del ($p = 0,0092$).

Для больных 1-й группы (носителей комплексного аллеля) характерны более высокие значения потовой пробы, что свидетельствует о более выраженном нарушении функции хлорного канала, по крайней мере в потовых железах, тогда как более низкая функция легких отмечена у детей 2-й группы (гомозиготы по F508del). Среди осложнений в группе гомозигот по мутации F508del чаще регистрировались полипы носа и остеопороз. Однако в группе больных с комплексным аллелем хроническая инфекция *B. cepacia complex* встречалась в 2 раза чаще, *S. maltophilia* – в 4 раза чаще (различия недостоверны). Полученные данные свидетельствуют о том, что носительство комплексного аллеля S466X(TGA)-R1070Q определяет тяжесть заболевания, сравнимую с таковой у гомозигот по F508del. «Мягкая» мутация R1070Q в данном комплексном аллеле в цис-положении не влияет на сохранение экзокринной функции поджелудочной железы. Только у 3 больных с «мягкой» мутацией в транс-

Таблица 6
Общая характеристика терапии в общих группах
(дети и взрослые); n (%)
Table 6
Common characteristics of combined groups
(children and adults); n (%)

Признак	S466X(TGA)-R1070Q	F508del/F508del
Гипертонический раствор NaCl	11 (64,7)	87 (51,17)
Антибактериальные препараты:		
• ингаляционные	5 (29,41)	73 (42,94)
• внутривенные	7 (41,17)	75 (44,11)
• таблетированные	12 (70,58)	138 (81,17)
Бронходилататоры	9 (52,94)	105 (61,76)
ГКС:		
• ингаляционные	4 (23,52)	40 (23,52)
• системные	1 (5,88)	10 (5,88)
Кислородотерапия	1 (5,88)	11 (6,4)
Пульмозим	17 (100)	160 (94,11)
Азитромицин	6 (35,29)	34 (20)
<i>p</i>		0,005
Урсодезоксихолевая кислота	17 (100)	158 (92,94)
Панкреатические ферменты	14 (82,35)	170 (100)
<i>p</i>		0,0310
Витамины	15 (88,23)	158 (92,94)
<i>p</i>		0,005
Кинезитерапия	12 (70,58)	117 (68,82)

Примечание: ГКС – глюкокортикостероиды.

положении с аллелем S466X(TGA)-R1070Q (3849+10kbC>T или 1898+3A>G) отмечено сохранение экзокринной функции поджелудочной железы. Подобные результаты получены в исследовании [8], где показано, что тяжелое течение заболевания наблюдается у пациентов с мутациями R1070Q и S466X(TGA) в цис-положении и «тяжелой» мутацией в транс-положении. Мутация S466X в данном аллеле проявляет свойства, характерные для мутаций I класса, связанных с нарушением синтеза белка, что в первую очередь проявляется в высоких показателях потовой пробы, характеризующей более выраженное нарушение работы хлорного канала и в абсолютной недостаточности поджелудочной железы.

Больным с комплексным аллелем требуется пристальное внимание как на этапе постановки диагноза в плане поиска обоих компонентов аллеля и выяснения их расположения на хромосоме (при этом необходимо генетическое обследование родителей), так и при динамическом наблюдении с учетом возможной предрасположенности к инфицированию дыхательного тракта грамотрицательной неферментирующей флорой.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что комплексный аллель S466X(TGA)-R1070Q проявляет свойства мутаций I класса и определяет высокие показатели хлоридов пота, склонность к тяжелым грамотрицательным инфекциям (*B. cepacia complex*, *S. maltophilia*) и снижению продолжительности жизни больных, а при отсутствии «мягкой» мутации в транс-положении — панкреатическую недостаточность.

Исследования фенотипа больных с комплексным аллелем должны быть продолжены.

Конфликт интересов

Конфликт интересов авторами не заявлен.

Работа выполнена в рамках плановых исследований научно-клинического отдела МВ, лаборатории генетической эпидемиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр» — Генетические аспекты муковисцидоза (госрегистрация № 01.9.40005064), грант РНФ № 17-15-01-051.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

This study was performed within the framework of the scheduled investigation “Genetic Aspects of Cystic Fibrosis” in the Research and Clinical Division of Cystic Fibrosis and in the Laboratory of Genetic Epidemiology, Federal Medical Genetic Academic Center (State Register Number 01.9.40005064), and according to the Russian Scientific Foundation fellowship No.17-15-01-051.

Литература

1. Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия». Под ред. Е.И.Кондратьевой и др. М.: ООО «Компания Боргес»; 2016.
2. Castellani C., Cuppens H., Macek M. Jr et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J. Cyst. Fibros.* 2008; 7 (3): 179–196. DOI: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.

3. Ahmed N., Corey M., Forstner G. et al. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut.* 2003; 52 (8): 1159–1164.
4. Koch C., Cuppens H., Rainisio M. et al. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations. *Pediatr. Pulmonol.* 2001; 31 (1): 1–12.
5. Borowitz D., Durie P.R., Clarke L.L. et al. Gastrointestinal outcomes and confounders in cystic fibrosis. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2005; 41 (3): 273–285.
6. Муковисцидоз. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2015 год. Под ред. Е.И.Кондратьевой и др. М.: Медпрактика-М; 2016.
7. Красовский С.А., Каширская Н.Ю., Черняк А.В. и др. 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.
8. Krasnov K.V., Tzetis M., Cheng J. et al. Functional studies of rare missense mutations in CFTR facilitate interpretation of genotype-phenotype relationships. *Hum. Mutat.* 2008; 29 (11): 1364–1372. DOI: 10.1002/humu.20866.
9. Radivojevic D., Djuricic M., Lalic T. et al. Spectrum of cystic fibrosis mutations in Serbia and Montenegro and strategy for prenatal diagnosis. *Genet. Test.* 2004; 8 (3): 276–280. DOI: 10.1089/gte.2004.8.276.
10. Petrova N., Kashirskaya N., Zinchenko R. et al. Genotype-phenotype correlation in Russian cystic fibrosis patients with S466X-R1070Q complex allele. *J. Cyst. Fibros.* 2015; 14: S42. DOI: 10.1016/S1569-1993(15)30133-8.
11. Mickle J.E., Milewski M., Macek M. Jr, Cutting G.R. Effects of cystic fibrosis and congenital bilateral absence of the vas deferens-associated mutations on cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-mediated regulation of separate channels. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 66 (5): 1485–1495. DOI: 10.1086/302893.
12. Seibert F.S., Linsdell P., Loo T.W. et al. Disease-associated mutations in the fourth cytoplasmic loop of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator compromise biosynthetic processing and chloride channel activity. *J. Biol. Chem.* 1996; 271 (25):15139–15145.
13. Sermet-Gaudelus I., Dechaux M., Vallee B. et al. Chloride transport in nasal ciliated cells of cystic fibrosis heterozygotes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171 (9): 1026–1031. DOI: 10.1164/rccm.200406-740OC.
14. Elahi E., Khodadad A., Kupersmidt I. et al. A haplotype framework for cystic fibrosis mutations in Iran. *J. Mol. Diagn.* 2006; 8 (1): 119–127.
15. Radivojevic D., Djuricic M., Lalic T. et al. Spectrum of cystic fibrosis mutations in Serbia and Montenegro and strategy for prenatal diagnosis. *Genet. Test.* 2004; 8 (3): 276–280. DOI: 10.1089/gte.2004.8.276.

Поступила 17. 09.17

References

1. Kondrat'eva E.I. et al., eds. Cystic Fibrosis. National Consensus. Moscow: ООО «Kompaniya Borges»; 2016 (in Russian).
2. Castellani C., Cuppens H., Macek M. Jr et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J. Cyst. Fibros.* 2008; 7 (3): 179–196. DOI: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.

3. Ahmed N., Corey M., Forstner G. et al. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut*. 2003; 52 (8): 1159–1164.
4. Koch C., Cuppens H., Rainisio M. et al. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations. *Pediatr. Pulmonol.* 2001; 31 (1): 1–12.
5. Borowitz D., Durie P.R., Clarke L.L. et al. Gastrointestinal outcomes and confounders in cystic fibrosis. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2005; 41 (3): 273–285.
6. Kondrat'eva E.I. et al., eds. Cystic Fibrosis. The Register of Patients with Cystic Fibrosis in Russian Federation, 2015. Moscow: Medpraktika-M; 2016 (in Russian).
7. Krasovskiy S.A., Kashirskaya N.Yu., Chernyak A.V. et al. Molecular characteristics of patients with cystic fibrosis in Russian Federation according to the data from the national register, 2014. *Pul'monologiya*. 2016; 26 (2): 133–151. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-2-133-151 (in Russian).
8. Krasnov K.V., Tzetis M., Cheng J. et al. Functional studies of rare missense mutations in CFTR facilitate interpretation of genotype-phenotype relationships. *Hum. Mutat.* 2008; 29 (11): 1364–1372. DOI: 10.1002/humu.20866.
9. Radivojevic D., Djuricic M., Lalic T. et al. Spectrum of cystic fibrosis mutations in Serbia and Montenegro and strategy for prenatal diagnosis. *Genet. Test.* 2004; 8 (3): 276–280. DOI: 10.1089/gte.2004.8.276.
10. Petrova N., Kashirskaya N., Zinchenko R. et al. Genotype-phenotype correlation in Russian cystic fibrosis patients with S466X–R1070Q complex allele. *J. Cyst. Fibros.* 2015; 14: S42. DOI: 10.1016/S1569-1993(15)30133-8.
11. Mickle J.E., Milewski M., Macek M. Jr, Cutting G.R. Effects of cystic fibrosis and congenital bilateral absence of the vas deferens-associated mutations on cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-mediated regulation of separate channels. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 66 (5): 1485–1495. DOI: 10.1086/302893.
12. Seibert F.S., Linsdell P., Loo T.W. et al. Disease-associated mutations in the fourth cytoplasmic loop of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator compromise biosynthetic processing and chloride channel activity. *J. Biol. Chem.* 1996; 271 (25):15139–15145.
13. Sermet-Gaudelus I., Dechaux M., Vallee B. et al. Chloride transport in nasal ciliated cells of cystic fibrosis heterozygotes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171 (9): 1026–1031. DOI: 10.1164/rccm.200406-740OC.
14. Elahi E., Khodadad A., Kupersmidt I. et al. A haplotype framework for cystic fibrosis mutations in Iran. *J. Mol. Diagn.* 2006; 8 (1): 119–127.
15. Radivojevic D., Djuricic M., Lalic T. et al. Spectrum of cystic fibrosis mutations in Serbia and Montenegro and strategy for prenatal diagnosis. *Genet. Test.* 2004; 8 (3): 276–280. DOI: 10.1089/gte.2004.8.276.

Received September 17, 2017