

Генетични тестове при редки белодробни заболявания в детската възраст

Д-р Вили Стоянова, доц. Мирослава Бошева

Катедра по педиатрия и медицинска генетика, Медицински университет, Пловдив

РЕЗЮМЕ

Развитието на генетичните проучвания предостави нова информация за изясняване на патофизиологията и етиологията на голяма част от редките белодробни заболявания в детската възраст. Това допринася за промяна в класификацията на белодробните заболявания, за тяхната по-ранна и точна диагноза, за консултиране на засегнатите семейства за риск от повторението ѝ. Клиничната приложимост на генетичните тестове и лесната им достъпност в наши дни разширяват обществената им популярност и налагат необходимостта от повече информация на педиатрите за генетично предразположение към редки белодробни заболявания. В настоящата публикация представяме информация за възможностите за генетични изследвания в България и тяхното приложение за своевременна диагноза при някои редки генетични белодробни заболявания в детската възраст.

Ключови думи: генетични тестове, муковисцидоза, алфа-1-антитрипсинов дефицит, Niemann-Pick, Gaucher, мукополизахаридози.

ABSTRACT

Due to the development of genetic research there is a new understanding of the pathophysiology rare childhood lung diseases. This new information gives an opportunity for better diagnostic, risk assessment and management of patients through genetic tests, and it also contributes for a new classification of lung diseases. Genetic tests have become more important since clinically applicable tests are readily available nowadays. With the increasing public awareness of genes and diseases, there is an increasing demand for more information about genetic diseases, genetic predisposition, and genetic susceptibility testing. This article reviews the potentiality of genetic tests in Bulgaria and their application for well-timed diagnosis and management of some rare childhood lung diseases.

Keywords: genetic tests, cystic fibrosis, alpha-1-antitrypsin deficiency, Niemann-Pick, Gaucher, mucopolysaccharidoses.

Въведение

Известно е, че редица редки заболявания на дишателната система са генетично обусловени или са с генетична предиспозиция. Проучванията в областта на геномиката и протеомиката предоставиха нова информация за изясняване на патофизиологията и етиологията на много от тях, което пък допри-

нася за ранната им диагностика и консултиране на семействата за риска от повторение. Независимо от това, корелацията генотип/фенотип на тези болести все още се изяснява. При някои заболявания, като муковисцидозата, генът е идентифициран и това позволява точна пренатална диагностика.

С развитието на медицинската генетика нараства нуждата от генетични изследвания. Клиничната им приложимост и лесна достъпност в наши дни разширяват обществената им популярност и налагат необходимостта от повече достъпна информация за генетичните заболявания и генетичното предразположение.¹

Цел на настоящото съобщение е да се представят възможностите за генетични изследвания в България и тяхното приложение за ранна диагностика и поведение при някои редки белодробни заболявания в детската възраст.

Генетичните тестове се прилагат за анализ на човешка ДНК, РНК, хромозоми, протеини или метаболити за определяне на свързан с наследствено заболяване генотип, мутация, фенотип или кариотип (табл. 1). Те се различават от традиционните медицински тестове по две причини: 1) резултатите от тези тестове допринасят за оценка на риска от съответното генетично заболяване за пациента и неговото семейство, и 2) те се използват за определяне на поведението при пациента, а не за неговото лечение.

Молекулярно-генетичните изследвания за наследствени заболявания се прилагат с цел:

- **диагноза:** тези тестове се прилагат за потвърждение или изключване на известно или предпо-

Молекулярно-биологични	- директен ДНК-анализ - линкч анализ - тестове за метилация - тестове за скъсяване на протеини
Молекулярно-цитогенетични	Флуоресцентна <i>in situ</i> хибридизация (FISH)
Биохимични	- тестове за оценка на ензимна активност - тестове за определяне на структура на протеини - тестове за определяне на количеството молекули

Табл. 1. Методи и технологии

лагаемо генетично заболяване при наличие на симптоми.

- **определяне на носителство:** тези тестове се предлагат при фенотипно здрави индивиди, носители на генна мутация за автосомно-рецесивно или Х-рецесивно заболяване. Предлагат се в случаи, когато има фамилна анамнеза за болен или носител, както и при етнически групи, за които е уточнена висока честота на носителство на определено заболяване.

- **пренатална диагностика:** извършва се по време на бременност при повишен риск от раждане на дете с генетично заболяване, при напреднала възраст на майката, при фамилна обремененост, при отклонения от биохимичния скрининг или отклонения на феталната ехография. Пренаталната диагностика се осъществява чрез амниоцентеза или хорионбиопсия. Други специализирани процедури са плацентарна биопсия, кордоцентеза, фетоскопия с фетална кожна биопсия.

- **неонатален скрининг:** предлага се за заболявания, за които е възможно лечение.

Генетичните тестове са сложен процес, който

включва не само избор на сигурен лабораторен метод, но и точна интерпретация на получените резултати.

Тези методи уточняват и променят медико-генетичната класификация на редките белодробни заболявания (според генетичната етиология).³ Към настоящия момент тази класификация се състои от 4 големи групи заболявания, представени в табл. 2. Прави впечатление, че едно и също заболяване е включено в повече от една група – например муковисцидозата, за която е известно, че се дължи на дефект в един ген, но последващите проучвания доказваха, че клиничните прояви зависят и от модифициращи гени.

За момента в страната е възможно провеждането на диагностични генетични тестове за пет редки белодробни заболявания.

Муковисцидоза (CF)

Муковисцидозата (кистозна фиброза) е наследствено заболяване с автосомно-рецесивен тип на унаследяване. Дължи на мутация в ген, наречен кис-

Група	Заболяване	Ген/хромозома/област
Моногенни дефекти	муковисцидоза	7q31.2
	първична цилиарна дискинезия	кандидат гени: 3p, 4q, 5p, 7p, 8q, 10p, 11q, 13q, 15q, 16p, 17q, 19q
	дефицит на сурфактант протеин b	хромозома 2
	първична пулмонална хипертония	хромозома 2q33
Белодробни болести с влияние на модифициращи кандидат-гени	муковисцидоза	манозо-свързващ лектин
		α-1-антитрипсин
		глутатион S-трансфераза
		TNF-α (туморнекротизиращ фактор α)
		други хлоридни канали
	астма	полиморфизъм на β-рецептор
		TNF-α (туморнекротизиращ фактор α)
		лимфотоксин-алфа
	пулмонална фиброза	TNF-α (туморнекротизиращ фактор α)
		антагонист на интерлевкин-1 рецептор
респираторни синцитиален вирус медиран (rsv) бронхиолити	полиморфизъм на интерлевкин-8	
Наследствени заболявания със засягане на белия дроб	riley-day syndrome (фамилна дисавтономия)	хромозома 9q31- кодиращ icar (i·kb киназен комплекс асоцииран протеин)
	грепаноцитоза	хромозома 11p15
	алфа 1-антитрипсинов дефицит	хромозома 14 q32
	Niemann-Pick	сфингомиелиназа/холестерол естерификация
	болест на Gaucher	хромозома 1 q21
	мукополизахаридози	лизозомен ензимен дефицит
белодробно засягане при вероятно наследствени болести	обструктивна апнея по време на сън	неизвестни
	системен lupus erythematoses	кандидат гени: hla locus; комплемент; igg рецептор; tnf рецептор

Табл. 2. Редки наследствени белодробни заболявания

тозно-фиброзен трансмембранен регулаторен ген (CFTR), локализиран в гългото рамо на 7 хромозома (7q31.2). Този ген кодира протеин, контролиращ движението на солите и водата към и навън от клетките. При мутация в гена се повишава вискозитетът на секретите в екзокринните жлези. Известни са над 1000 мутации в този ген. Генът е с плейотропен ефект. Характеризира се с вариабилност в експресията.⁵

Сигурната клинична диагноза, поставена въз основа на белогробната и/или панкреатичната симптоматика и потвърдена от положителни потни тестове, е индикация за предприемане на генетична консултация и генетични изследвания. Целта на генетичните тестове е профилактика в семейството с дородова диагностика.⁹

Алфа-1-антитрипсинов дефицит

Дефицитът на α_1 -антитрипсин е генетичен дефект, дължащ се на мутация в кодиращия го ген - SERPINA1 (serpin peptidase inhibitor, clade A, alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 1. Генът е локализиран в 14 хромозома – 14 q32.1. Неговият продукт - алфа 1-антитрипсинът (α_1 -АТ), е гликопротеин. Той е основен плазмен инхибитор, който образува комплекси с широк спектър от протеази, включително еластаза, трипсин, химотрипсин, тромбин и множество бактериални протеази. Главен субстрат е неутрофилната еластаза, която, отделена от левкоцитите, предпазва от инфекции. При липса или намалено производство на α_1 -АТ неутрофилната еластаза разгражда еластина от стената на белогробните алвеоли. Моделът на унаследяване е кодоминантен, следователно и двата алела на гена имат отношение към експресията. Идентифицирани са повече от 100 различни генетични варианта на алфа-1-антитрипсин.

Първите симптоми най-често се проявяват между 20- и 50-годишна възраст. В около 10% от случаите началните симптоми са в детска възраст.²

Алфа-1-антитрипсинов дефицит при деца се подозира при респираторен дистрес при новородено, неонатален хепатит, чести обструктивни бронхити, емфизем и параклинични данни за намален нив на α_1 -глобулините при рутинна електрофореза и количествено измерване на ААТ под 40% от нормата. Диагнозата се потвърждава чрез молекулярно генетични тестове за мутации в двата алела на гена SERPINA1 и чрез определяне на белтъчното ниво на алелните варианти. Определяне само на концентрацията на алфа-1-антитрипсина не е достатъчно за диагностика. Алфа-1-антитрипсиновият дефицит се диагностицира лесно, но много хора с този дефект никога не са се изследвали. Причината е, че симптомите не са характерни и често се отгават на други обстоятелства.⁸

Вродени метаболитни нарушения Болест на Niemann–Pick

За болестта на Niemann Pick са известни основно 4 форми: А, В, С и D, които се разделят на два типа според етиологията – тип I (субтип А и В) и тип II (субтип С и D). Днес е ясно, че тип А и В се

дължат на мутации в SMPD₁ гена, кодиращ кисела сфингомиелиназа. Дефицитът на този ензим е причина за натрупване на сфингомиелин в лизозомите на секретиралите го клетки. Тип С и D (считан за вариант на тип С) се дължат на мутации в NPC1 гена и по-рядко в NPC₂, водещи до намалена активност на киселата сфингомиелиназа и нарушено разграждане на холестерола и други липиди. При всеки тип се засягат различни органи. Пораженията на дихателната система са характерни за тип В и С. Изключително тежко е засягането на белите дробове при тип С, водещо до ранна смърт. За диагнозата е достатъчно определяне на количеството на ензима в кръвта или кожни фибробласти, а за определяне на носителство се извършват ДНК тестове за определяне на мутация в съответния ген.

Заболяването е нелечимо и затова е изключително важна прецизната диагностика, с цел пренатална диагностика при следваща бременност.

Мукополизахаридози

Известни са много вродени грешки в метаболизма, дължащи се на натрупване на мукополизахариди в различни органи.⁷ В повечето случаи засягането на дихателната система е вторично, поради скелетни или анатомични аномалии. По-рядко отлагане в белите дробове може да предизвика интерстициални увреждания.⁶ Анатомичните аномалии водят до чести белогробни инфекции, обструктивна апнея по време на сън, пулмонална хипертензия и затруднено дишане при натрупване. Проучванията в последните години уточниха генетичните аномалии при тези пациенти и допринесоха за ранната им диагноза.

Болест на Gaucher

Дължи се на дефект в глюкозидазата, поради което във вътрешните органи се натрупва глюкоцереброзид. Известни са две автозомно-рецесивни форми - тип 1 е най-честа при евреите Ашкенази, а тип 2 се извява още в ранна детска възраст и засяга белите дробове. Генът, кодиращ глюкоцереброзидазата, е локализиран в първа хромозома - 1q21. Идентифицирани са повече от 100 мутации. Установена е корелация между генотип и фенотип, но се предполага влияние и на други генетични и външни фактори. На настоящия етап се диагностицира чрез неонатален скрининг поради възможност за заместителна ензимна терапия.¹⁰

Заклучение

Познаването на настоящите възможности на генетичните тестове е определящ фактор за оптималното им използване. Прилагането им при деца с редки белогробни заболявания е надежден метод за ранна диагностика и профилактика на подобни нарушения.

Литература

1. Burke W. Genetic testing. *N Engl J Med* 2002;347:1867–1875

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.