

## ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРА ЧАСТЫХ МУТАЦИЙ ГЕНА *CFTR* В КАРАЧАЕВО-ЧЕРКЕССИИ

Макаов А. Х.-М.<sup>1</sup>, Петрова Н. В.<sup>2</sup>, Тимковская Е. Е.<sup>2</sup>, Васильева Т. А.<sup>2</sup>,  
Каширская Н. Ю.<sup>2</sup>, Кондратьева Е. И.<sup>2</sup>, Зинченко Р. А.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Муниципальное бюджетное лечебно-профилактическое учреждение «Хабезская центральная районная больница», Хабез, e-mail: makaov@yandex.ru

<sup>2</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, e-mail: renazinchenko@mail.ru

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» МЗРФ, Москва, e-mail: renazinchenko@mail.ru

Муковисцидоз – наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутациями гена *CFTR*. Частоты и спектр мутаций гена *CFTR* различаются по популяциям и этносам как РФ, так и мира. В статье приводятся данные об особенностях спектра и частот мутаций гена *CFTR* в разных этнических группах Карачаево-Черкессии (карачаевцы, ногайцы, абазинцы, черкесы), полученные как при анализе материала о больных муковисцидозом, так и при оценке гетерозиготности здорового населения разных этнических групп. Оценены популяционные частоты 12 частых *CFTR* мутаций (*CFTR*dele2,3(21 kb), 394delTT, L138ins, I507del, F508del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA>G, 2184insA, 3821delT, E92K, W1282X) у 653 здоровых неродственных индивидов, представителей коренного населения республики КЧР: карачаевцев (n=300), ногайцев (n=122), черкесов (n=103) и абазин (n=128). В результате анализа гетерозиготного носительства частых мутаций в гене *CFTR* среди здоровых индивидов определено: в выборке карачаевцев выявлены 2 мутации W1282X (частота 0,01; 6/600) и 1677delTA (0.003; 2/600); в выборке ногайцев мутация W1282X (0.012; 3/244); в выборке черкесов мутаций F508del (0.01; 2/206) и 1677delTA (0.01; 2/206); в выборке абазин выявлены три мутации – F508del (0.004; 1/256), W1282X (0.004; 1/256), 1677delTA (0.012; 3/256).

Ключевые слова: генетическая эпидемиология, муковисцидоз, частота и спектр мутаций гена *CFTR*, Карачаево-Черкессия.

## CHARACTERISTICS THE SPECTRUM OF *CFTR* MUTATIONS IN KARACHAY-SHERKESSIA

Makaov A. K.-M.<sup>1</sup>, Petrova N. V.<sup>2</sup>, Timkovskaya E. E.<sup>2</sup>, Vasilyeva T. A.<sup>2</sup>, Kashirskaya N. Y.<sup>2</sup>,  
Kondratyeva E. I.<sup>2</sup>, Zinchenko R. A.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Municipal Budgetary Health Care setting "Habezskaya central district hospital", Habez, e-mail: makaov@yandex.ru

<sup>2</sup> Federal state scientific budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, e-mail: renazinchenko@mail.ru

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, e-mail: renazinchenko@mail.ru

Cystic fibrosis (CF) is a hereditary disease with autosomal recessive inheritance caused by *CFTR* gene mutations. There is a variation of the frequency and spectrum of *CFTR* gene mutations in different populations and ethnic groups, both Russia and the world. The article presents data on the spectrum and frequencies of the *CFTR* gene mutations in different ethnic groups of Karachay-Cherkessia (Karachai, Nogai, Abaza, Cherkess). The material of CF patients, and healthy individuals from different ethnic groups was analyzed. The population frequencies of 12 common *CFTR* mutations (*CFTR* dele 2,3 (21 kb), 394delTT, L138ins, I507del, F508del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA> G, 2184insA, 3821delT, E92K, W1282X) from 653 healthy unrelated individuals, of indigenous population of KCR was estimated: Karachai (n = 300), Nogai (n = 122), Cherkess (n = 103) and Abaza (n = 128). An analysis of heterozygous carrier of common *CFTR* mutations in healthy individuals was defined: W1282X (frequency of 0.01, 6/600) and 1677delTA (0.003; 2/600) in the sample of Karachay; in the sample of Nogai – W1282X mutation (0.012; 3/244); in the sample of Cherkess– F508del mutation (0.01; 2/206) and 1677delTA (0.01; 2/206); F508del (0.004; 1/256), W1282X (0.004; 1/256) and 1677delTA (0.012; 3/256) mutations in the sample of Abaza.

Keywords: genetic epidemiology, cystic fibrosis, frequency and spectrum of *CFTR* gene mutations, Karachay-Cherkess.

Муковисцидоз (МВ; OMIM #219700) – частое наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутациями гена *CFTR*. Для муковисцидоза, так же как и для

большинства моногенных наследственных болезней, является характерным не только различие в распространенности заболевания, но и варьирование спектра и частот мутаций гена *CFTR* в различных популяциях и этнических группах. Выявление спектра и частот наиболее распространенных в конкретной популяции мутаций важно как с теоретической, так и с практической точек зрения, т. к. может способствовать оптимизации медико-генетической помощи населению [4].

В настоящей статье представлены результаты изучения спектра мутаций в гене *CFTR* у представителей основных этнических групп, проживающих на территории Карачаево-Черкесской Республики (КЧР): карачаевцев, ногайцев, черкесов и абазин.

Карачаевцы – коренной этнос Северного Кавказа, относятся к кавкасионскому антропологическому типу балкано-кавказского варианта европеоидной расы, носители кобанской археологической культуры, сложившейся в XIV—XIII вв. до н. э. в горах и ущельях Центрального Кавказа. По мнению Е. П. Алексеевой, в IV веке с горцами — потомками кобанцев слилось одно из племен алан, которые были изгнаны гуннами из степей Предкавказья в горы. К сформировавшейся ранее алано-кобанской этнической группе присоединились тюркоязычные болгары, ставшие впоследствии основным этническим ядром карачаево-балкарской народности. Говорят на карачаево-балкарском языке кыпчакской группы тюркской семьи [1, 2].

Временем образования ногайской народности принято считать конец XIV века, когда татаро-монгольское государство Золотая Орда стало приходить в упадок, и из его состава выделилась так называемая Ногайская Орда. Термин «ногаи» («нагаи») встречается уже в русских документах конца XV века. В формировании ногайской народности приняли участие племена: кенегес, канглы, аргын, конграт, сырык (ширик), кыпчак, мангыт, сун (уйсун) и, очевидно, найман. Из перечисленных племен: конгураты и найманы, скорее всего, имеют чисто монгольское происхождение, мангиты — тюркизированные племена монгольской ветви, а остальные племенные образования специалисты склонны относить к тюркской языковой группе [1, 2].

Черкесы (адыги) формировались как народность на Северо-Западном Кавказе. Их предками, по мнению отечественных кавказоведов, следует считать меотские племена зихов и касогов. Эти племена, жившие на Черноморском побережье Кавказа, в горах и предгорьях Закубанья с незапамятных времен, к X веку сложились в единую народность с общим языком, имевшим ряд племенных диалектов. Черкесы говорят на языках адыгской подгруппы абхазо-адыгской семьи языков [2].

В XV—XVI веках на этнополитической карте современной Карачаево-Черкесии появляется еще одна этническая группа – абaziны. Историческая древняя родина абазин –

территория современной Абхазии и древней Черкессии. На рубеже XV–XVI вв. абазини мигрируют на северо-восток. Часть их вместе с адыгами двигалась по Северному Кавказу. Другая часть проникла на северные склоны Кавказского хребта через перевалы. Абазини лингвистически наиболее близки к абхазам, однако они больше подверглись адыгскому влиянию, и в их культуре абхазских элементов меньше, чем адыгских. Многие народы в различных странах мира часто упоминают абазин именно как черкесов [2].

Расселение коренных народов по территории современной КЧР подошло к логическому завершению к концу XVII века. С тех пор и по сей день карачаевцы, черкесы, абазини и ногайцы живут по соседству. За это время они пережили много общего, претерпели ряд территориальных переделов и административных реформ, вплоть до объединения в рамках одного полинационального государственного образования [1, 2].

**Цель исследования:** изучить спектр и частоты мутаций в гене *CFTR*, характерных для населения Карачаево-Черкесской Республики, регионе компактного проживания четырех малочисленных народов Кавказа: карачаевцев, черкесов, абазин, ногайцев.

#### **Материалы и методы исследования**

В исследование включены 11 пациентов с МВ из неродственных семей и их родители, проживающие в республике Карачаево-Черкессия. 10 пациентов – карачаевцы по национальности, 1 – русский. Диагноз муковисцидоз установлен на основе клинической картины, положительной потовой пробы и биохимических исследований в региональной медико-генетической консультации и в научно-консультативном отделении ФГБНУ «МГНЦ».

У всех пациентов проведен поиск 29 частых для российского региона мутаций в гене *CFTR*. Анализ мутаций CFTRdele2,3(21kb), F508del, I507del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA>G, 2184insA, 394delTT, 3821delT, L138ins проведен методом мультиплексной ПЦР согласно ранее описанной методике [5]. Мутации G85E, G542X, G551D, R553X, N1303K, W1282X, R334W, R347P, R117H, 621+1G>T, 3849+10kbC>T, 1717-1G>A, 604insA, S1196X, 3667insTCAA, 3944delTG, E92K, 2789+5A>G, W1282R определены методом рестрикционного анализа (названия мутаций приведены в соответствии с традиционной номенклатурой) [7].

В двух образцах больных МВ, у которых при клиническом диагнозе МВ не найдено мутации на одной хромосоме из списка 29 частых мутаций, проведено прямое секвенирование по Сэнгеру части последовательности, охватывающей экзоны, экзон-интронные соединения, 5' нетранслируемый регион гена *CFTR*. Также в исследование включены данные по генотипированию 22 пациентов с МВ, не карачаевцев, носителей, по крайней мере, одной мутации W1282X, и их родителей (из банка данных лаборатории

генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ»). Анализ ДНК-маркеров XV2с, KM19, IVS1CA, IVS6aGATT, IVS8CA и IVS17bCA проведен согласно ранее описанной методике [5]. Конструкцию гаплотипов, сцепленных с мутациями гена *CFTR*, проводили вручную при семейном анализе сегрегации аллелей анализируемых маркеров. Построение и оценка вероятных частот гаплотипов четырех маркеров в выборке здоровых индивидов выполнены с помощью программы ARLEQUINver 3.5.

Для оценки популяционных частот и спектра мутаций гена *CFTR* проведен анализ 12 частых для России мутаций (CFTRdele2,3(21 kb), 394delTT, L138ins, I507del, F508del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA>G, 2184insA, 3821delT, E92K, W1282X) у 653 здоровых неродственных индивидов из 7 районов (Усть-Джегутинский, Карачаевский, Малокарачаевский, Прикубанский, Абзинский, Ногайский и Хабезский) и г. Черкесска, представляющих 4 этнические группы коренного населения республики Карачаево-Черкессия (Россия): карачаевцы, ногайцы, черкесы, абазинцы.

От всех обследуемых или их представителей (родителей) получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ».

### **Результаты исследования и их обсуждение**

По результатам медико-генетического обследования населения КЧР и по данным медико-генетической консультации г. Черкесска (данные скрининга новорожденных) в настоящий момент на территории Республики проживает 11 пациентов с МВ. Продолжительность жизни пациентов с МВ зависит от множества причин, включая наличие «тяжелых» мутаций в гене *CFTR*, пожизненное лечение и возможные осложнения.

Молекулярно-генетический анализ выполнен в 11 неродственных семьях,отягощенных МВ (больные 2005–2014 г.р.): 1 – русской и 10 – карачаевских. ДНК-анализ включал 29 характерных для России мутаций (CFTRdele2,3(21kb), F508del, I507del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA>G, 2184insA, 394delTT, 3821delT, L138ins, G85E, G542X, G551D, R553X, N1303K, W1282X, R334W, R347P, R117H, 621+1G>T, 3849+10kbC>T, 1717-1G>A, 604insA, S1196X, 3667insTCAA, 3944delTG, E92K, 2789+5A>G, W1282R), обуславливающих до 75–80 % всех мутантных аллелей у российских пациентов с МВ, согласно нашим ранее проведенным исследованиям [6]. У пациента с МВ русского происхождения обнаружен генотип F508del/2184insA. У 10 пациентов из карачаевских семей на 18 из 20 аллелей (90 %) выявлена высокая доля мутации W1282X: восемь пациентов оказались гомозиготными носителями по мутации W1282X, двое – гетерозиготные компаунды. В двух последних семьях для возможности идентификации второго аллеля проведено секвенирование кодирующей области гена *CFTR* и идентифицированы вторые

мутантные аллели: R1066C (с.3196C>T; p.Arg1066Cys) – в одном случае и R709X (с.2125C>T; p.Arg709X) – в другом.

Таким образом, у карачаевцев, больных МВ, самая распространенная у европеоидов мутация F508del в гене *CFTR* не обнаружена. Самой частой в исследованной группе больных с МВ выявлена мутация W1282X.

Изучение происхождения мутации W1282X показало, что она встречается в разных регионах мира, но наибольшая ее частота выявлена у евреев-ашкеназов Израиля (до 50 % мутантных аллелей у больных с МВ). На основании проведенных исследований было показано, что мутация W1282X произошла в результате единичного мутационного события в популяции ближневосточных евреев до их переселения в Европу, а далее ее распространение связано с расселением евреев-ашкеназов [9].

С целью уточнения возможного происхождения и распространения мутации W1282X у карачаевцев проведен анализ гаплотипов, сцепленных с геном *CFTR* ДНК-маркеров (XV2с, KM19, IVS1CA, IVS6aGATT, IVS8CA, IVS17bCA) у больных МВ, имеющих мутацию W1282X: карачаевцев (10), не карачаевцев (22) и их родителей; а также у здоровых карачаевцев (50).

В обеих группах пациентов с МВ (карачаевцев и не карачаевцев), так же как у евреев-ашкеназов из Израиля, хромосомы с мутацией W1282X сцеплены с одинаковым гаплотипом 1–2, фланкирующих ген *CFTR* маркеров XV2с-KM19 [8]. В выборке 100 хромосом здоровых карачаевцев, не являющихся носителями мутации W1282X, частоты гаплотипов маркеров XV2с-KM19 распределены следующим образом: 1-1 – 0,4643; 2-1 – 0,3571 и 2-2 – 0,1786, гаплотип 1-2 не обнаружен. Рассмотрение внутригенных STR полиморфизмов IVS1CA-IVS6aGATT-IVS8CA-IVS17bCA показало различия гаплотипов в двух рассматриваемых группах хромосом (карачаевцев и не карачаевцев), несущих мутацию W1282X: хромосомы в группе больных МВ карачаевцев имеют один гаплотип 26-7-17-18; в группе некарачаевцев выявлено два гаплотипа (86,4 % составляет гаплотип 26-7-17-17, 13,6 % – гаплотип 24-7-17-17).

Анализ частот гаплотипов полиморфизмов IVS1CA-IVS6aGATT-IVS8CA-IVS17bCA в выборке здоровых карачаевцев, не являющихся носителями мутации W1282X, показал, что наиболее частыми являются гаплотипы 22-7-16-13 (32 %) и 23-7-16-13 (16 %). Гаплотипы же, ассоциированные с мутацией W1282X у некарачаевцев, являются весьма редкими на нормальных хромосомах, составляя около 0,8 % – для гаплотипа 26-7-17-17 и 1 % – для гаплотипа 24-7-17-17, тогда как гаплотип 26-7-17-18, ассоциированный с мутацией W1282X у карачаевцев, на нормальных хромосомах исследуемой выборки не обнаружен.

Можно предположить, что проникновение мутации W1282X гена *CFTR* на территорию КЧР и европейской части России происходило в разное время и разными группами носителей этой мутации.

По историческим данным известно несколько волн переселения евреев на Кавказ. Миграция евреев из Ирана и Месопотамии в Восточное Закавказье относится примерно к середине VI века н. э. [3]. Наиболее крупным стало переселение сасанидским царем Хосровом I Ануширваном иранских евреев в 520–530 годах. Кроме того, грузинские источники сообщают о массовом прибытии евреев в Западную Грузию в VI веке из Византии и о последующей миграции части из них (3 тыс. евреев) в Восточную Грузию. О других подобных передвижениях сведений практически не сохранилось. В начале XVI столетия и XVIII–XIX веках отмечены еще две волны миграций. Третья волна значительных миграций иранских евреев в XVIII веке на Восточный Кавказ связана с иранской областью Гилян, прилегающей к юго-западной части Каспийского моря. Таким образом, кавказские евреи как особая часть еврейского мира сформировались на Кавказе в результате нескольких волн миграций, преимущественно из Ирана [3].

Практически все евреи России относятся к группе ашкеназов. Первые контакты между горскими (кавказскими) евреями и российскими евреями-ашкеназами относятся к двадцатым-тридцатым годам XIX века. Но лишь в 60-х гг. XIX века контакты горских евреев с ашкеназами России участились и упрочились [3].

Таким образом, можно предположить, что проникновение мутации W1282X на Кавказ связано с расселением евреев из Ирана в раннее средневековье, а ее высокая частота среди больных муковисцидозом у карачаевцев является следствием эффекта основателя. Тогда как распространение мутации W1282X в восточно-европейских регионах России обусловлено расселением евреев-ашкеназов в более позднее время.

Для возможной оценки популяционных частот и спектра мутаций гена *CFTR* проведен анализ 12 частых для России мутаций (*CFTR*dele2,3(21 kb), 394delTT, L138ins, I507del, F508del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA>G, 2184insA, 3821delT, E92K, W1282X) у 653 здоровых неродственных индивидов, представителей коренного населения республики КЧР: карачаевцы (n=300), ногайцы (n=122), черкесы (n=103), абазинцы (n=128).

Анализ частых мутаций в гене *CFTR* среди здоровых индивидов четырех этнических групп Карачаево-Черкесской республики представлен в таблице.

Результаты анализа мутаций (*CFTR*dele2,3(21 kb), 394delTT, L138ins, I507del, F508del, 1677delTA, 2143delT, 2183AA>G, 2184insA, 3821delT, E92K, W1282X) в гене *CFTR* в выборке здоровых индивидов Карачаево-Черкесской Республики

Этнос	Число здоровых индивидов	Число обследованных хромосом	Число хромосом с мутацией	Мутация в гене <i>CFTR</i>
Карачаевцы	300	600	6 2	W1282X 1677delTA
Ногайцы	122	244	3	W1282X
Черкесы	103	206	2 2	W1282X F508del
Абазины	128	256	1 1 3	W1282X F508del 1677delTA

В результате проведенного анализа гетерозиготного носительства частых мутаций в гене *CFTR* среди здоровых индивидов различных коренных народов КЧР удалось установить частоты частых мутаций для каждого этноса: в выборке карачаевцев частота мутации W1282X составила 0,01 (6/600), мутации 1677delTA 0.003 (2/600); в выборке ногайцев выявлена мутация W1282Xc частотой 0.012(3/244); в выборке черкесов частота мутаций F508del составила 0.01 (2/206) и 1677delTA также 0.01 (2/206); в выборке абазин выявлены три частые мутации: F508del – частота 0.004 (1/256), W1282X – частота 0.004 (1/256), 1677delTA – частота 0.012 (3/256).

#### **Заключение**

В каждой из выборок из разных этнических групп суммарная частота проанализированных МВ мутаций (q) превышает 1 %, т.е. частота муковисцидоза должна составлять не менее 1:10000. Мутация 1677delTA распространена среди МВ больных, относящихся к народам Северного Кавказа (чеченцы, ингуши) и Закавказья (грузины). В настоящем исследовании мутация 1677delTA обнаружена у карачаевцев, абазин и черкесов, являющихся автохтонными этносами северо-кавказского региона России, и не обнаружена у ногайцев, имеющих более короткую историю проживания на этой территории.

Полученные результаты являются следствием этногенеза народов. Карачаевцы относятся к кавказскому антропологическому типу балкано-кавказского варианта европеоидной расы. Говорят на карачаево-балкарском языке кыпчакской группы тюркской семьи. Временем образования ногайской народности считается конец XIV века, тюркизированные племена монгольской ветви относятся к тюркской языковой группе. Черкесы и абазины принадлежат к группе абхазо-адыгских народов.

*Работа выполнена при частичном финансировании грантов РФФИ 14-04-00525 и 15-04-01859.*

#### **Список литературы**

1. Алексеева Е. П. Карачаевцы и балкарцы – древний народ Кавказа. – Черкесск, 1963. ([http://www.elbrusoid.org/upload/iblock/8fc/karacay-balkar-drev-narod\\_turklib.pdf](http://www.elbrusoid.org/upload/iblock/8fc/karacay-balkar-drev-narod_turklib.pdf)).
2. Гарданов В. К. Адыги, балкарцы и карачаевцы в известиях европейских авторов XIII – XIX вв. Нальчик: Книжное изд-во «Эльбрус», 1974. – 636 с.
3. Гусейнов Р. Иудаизм на Кавказе // Кавказ и глобализация. – 2008. – Т.2. – Вып. 3. – С.194-204.
4. Муковисцидоз / Под редакцией Н. И. Капранова, Н. Ю. Каширской. – М.: ИД «Медпрактика-М», 2014. – 682 с.
5. Петрова Н. В. Анализ четырех полиморфизмов в гене CFTR в семьях больных муковисцидозом // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 12. – С.27-32.
6. Петрова Н. В., Тимковская Е. Е., Зинченко Р. А., Гинтер Е. К. Анализ частоты некоторых мутаций в гене CFTR в разных популяциях России // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 2. – С.32-39.
7. Петрова Н. В. Молекулярно-генетические и клинико-генотипические особенности муковисцидоза в российских популяциях: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2009. – 44 с.
8. Sereth H., Shoshani T., Bashan N., Kerem B. S. Extended haplotype analysis of cystic fibrosis mutations and its implications for the selective advantage hypothesis // Hum. Genet. – 1993. – V. 92, № 3. – P. 289-295.
9. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. Report of a Joint Meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)/ECFS / World Health Organization (WHO) // Genoa, Italy, 19 June 2002. – Human Genetics Programme. – 2004. – 24 p.