

Листовка за лекаря: Анализ на 139 варианта на кистозна фиброза

ЗА ИН ВИТРО ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА

Генетично тестване и кистозна фиброза

Кистозната фиброза (CF) е хронично заболяване, което засяга системите на множество органи, най-вече белите дробове и храносмилателната система. Тя е най-често срещаното животнозастрашаващо автозомно-рецесивно нарушение в САЩ и се получава при унаследяване на дефектно копие на гена „трансмембранен регулатор на проводимостта при кистозна фиброза“ (*CFTR*) от всеки родител, който носи генетични мутации^{1,2}. Обичайно лицата със CF се диагностицират чрез програми за скрининг за новородени и диагнозата се потвърждава чрез тест за измерване на количеството на хлорид в потта до двегодишна възраст³. Към днешна дата са идентифицирани повече от 1900 варианта на гена *CFTR*. Едва сравнително малка подгрупа от тези варианти обаче е клинично и функционално валидирана и определена като причинител на кистозна фиброза⁴. Вариант (понякога наричан „мутация“, когато причинява болест) е генетична промяна, която е идентифицирана като различна от нормалното (или „див тип“) референтно секвениране, с което се сравнява. Вариантите на *CFTR* могат да бъдат причиняващи CF, с различни клинични последици, доброкачествени или да имат неизвестно значение. Тези, които са с различни клинични последици, могат да причинят CF само при определени обстоятелства или да бъдат асоциирани със заболявания, свързани със CF.

Каква е очакваната продължителност на живота при пациенти с кистозна фиброза в Съединените щати?

Продължителността и качеството на живот, които пациент със CF може да има, е силно зависимо от многобройни различни фактори, включително тежестта на заболяването и времето на започване на лечение. Важно е да се отбележи, че не всички мутации на *CFTR* ще доведат до тежко заболяване. Много хора имат лек случай на CF, докато други могат да имат умерено тежко или тежко заболяване. Данни от пациентския регистър на Фондацията за CF, който проследява здравна статистика от пациенти, лекувани в акредитирани центрове за грижи на Фондацията за CF, показват, че повече от 47% от всички хора със CF в САЩ са на 18 или повече години и настоящата обща средна преживяемост е 38,3 години⁵.

Епидемиология на кистозната фиброза

CF е едно от най-често срещаните автозомно-рецесивни генетични нарушения^{6,7}. Изчисленията сочат, че болестта засяга едно на 2000 до 4000 живородени и е разпространена сред приблизително 30 000 лица от населението на САЩ⁸. CF се среща в популация с различна етническа и расова принадлежност в различни честоти: един на 3000 души с кавказки произход; един на 9200 американци с испански произход; един на 10 900 индианци; един на 15 000 души с афроамерикански произход; и един на 31 000 американци с азиатски произход^{8,9}.

Генетично тестване и скрининг за носителство за кистозна фиброза

Тестването за носителство може да се използва, за да се определи дали някой има генетичен вариант в своя ген *CFTR*. Тестването е ограничено до тези варианти, за които е известно, че причиняват болестта. Ако и двамата родители имат вариант, причиняващ болестта, тогава шансът детето да наследи и двата гена и следователно да развие болестта е едно към четири. Процентът на откриване на носители зависи от расата и етническата принадлежност на отделното лице, защото много мутации се наблюдават само при определени

етнически групи. Повече от 10 милиона американци са носители на една мутация на гена на CF. Настоящите изчисления на честотата на носителство на мутацията на *CFTR* по етническа принадлежност в САЩ, базирани на кохорта от 364 890 лица, насочени към тестване за носителство, без семейна история на CF, са предоставени в Таблица 1.

Таблица 1 Обща честота на носителство на мутацията за кистозна фиброза в различни етнически групи в САЩ¹⁰

Етническа група	Наблюдавана честота на носителство
Афроамерикански произход	1 на 84
Евреи ашкенази	1 на 29
Азиатски произход	1 на 242
Кавказки произход	1 на 28
Испански произход	1 на 59
Евреи	1 на 32
С произход от Близкия изток	1 на 91
Индианци	1 на 70
Южноазиатски произход	1 на 118
Друга етническа принадлежност	1 на 111
Друга етническа принадлежност: > 1 етническа принадлежност	1 на 34
Друга етническа принадлежност: частичен афроамерикански произход	1 на 56
Друга етническа принадлежност: частичен кавказки произход	1 на 32
Друга етническа принадлежност: частичен испански произход	1 на 51
Не е посочена	1 на 37
Всички лица	1 на 38

Панели за генетично тестване

Тестването за CF за генетични мутации може да се различава значително между различните лаборатории и зависи от конкретния тест, използван от лабораторията. Някои ограничават тяхното покритие до препоръката за 23 панетнически варианта на CF на Американския колеж по медицинска генетика (ACMG), 2004,¹¹ и Американския колеж по акушерство и гинекология (ACOG), 2011¹², докато други включват допълнителни по-често и по-рядко срещани варианти, които се откриват в популация с по-голямо етническо разнообразие^{2,5,10,13}. Вариантите, включени в препоръчания от ACMG панел, са избрани първоначално въз основа на тяхното преобладаване в общата популация на САЩ и на известната им връзка с умерено тежко до тежко протичане на болестта.

Клиничната валидност на вариантите, включени в анализа на 139 варианта на кистозна фиброза, се основава на информация, събрана и публикувана по проекта CFTR2^{14,15}. Проектът CFTR2 е свързан с оригиналната база данни за мутации на кистозна фиброза (понастоящем наричана CFTR1), която е посветена на събирането на варианти, идентифицирани в гена *CFTR*, за международната общност, изследваща CF. CFTR2 е международно сътрудничество между изследователи, лекари и регистри, свързани със CF, които работят заедно с цел да категоризират всички варианти, открити в база данни от 39 696 пациенти със CF, според техния статус за причиняване на заболяване: причиняващи заболяване, мутации с различни клинични последиствия (MVCC), мутации с неизвестно значение, както и непричиняващи CF (например доброкачествени или неутрални)^{14,15}. Класификацията на тези варианти се основава на клинични данни (например нива на натриев хлорид, функция на дробовете и функция на панкреаса), инвитро функционални проучвания (например синтез, съзряване, експресия, функция и хлоридна проводимост на протеина CFTR), както и проучвания на пенетрантността (използвайки видимо здрави и фертилни бащи на пациенти със CF,

за да се проучат всички варианти на *CFTR*, проявяващи на алела, който не е предаден на засегнатите им синове)¹⁴. От септември 2013 г. проектът CFTR2 е идентифицирал над 160 варианта, които се проявяват с честота от > 0,01% в лица със CF, като 134 уникални варианта от тях (въз основа на промените в нивото на нуклеотидите и в съответствие със 129 варианта в базата данни CFTR2) са класифицирани като причиняващи CF^{14,15}.

Елементи на анализа на 139 варианта на кистозна фиброза

Тестването с анализа на 139 варианта на кистозна фиброза се извършва върху ДНК, извлечена от спесимен на цяла кръв. Анализът тества за: 134 варианта, причиняващи CF; един панелен вариант, препоръчан от ACMG (R117H, класифициран от CFTR2 като мутация с разновидни клинични последиствия, MVCC); един изменящ се вариант, докладван при определени условия (PolyTG/PolyT); и три доброкачествени варианта, докладвани при определени условия (I506V, I507V, F508C)¹⁶; общо 139 докладвани варианта.

Посочените 134 варианта, причиняващи CF, отговарят на 129 варианта, причиняващи CF, в базата данни на CFTR2. Базата данни на CFTR2 включва пет варианта, причиняващи CF, за които промяната на едно и също протеиново ниво може да настъпи от две различни нуклеотидни промени [например S466X(C>A) и S466X(C>G)]. Тези пет варианта са вписани според аминокиселинния кодон в базата данни на CFTR2 (например S466X), докато анализът докладва всеки отделен вариант [например S466X(C>A) и S466X(C>G)]. Списъкът със 139 варианта, докладвани от анализа на 139 варианта на кистозна фиброза, е представен в Таблица 2.

Таблица 2 Обобщение на вариантите от анализа на 139 варианта на кистозна фиброза

[Изброени в геномнокоординиран ред; **получер шрифт** = ACMG-23;

курсив = докладван при определени условия; ** = валидиран с изкуствени проби]

M1V**	T338I**	Q552X	3121-1G>A**
CFTR dele2,3	1154insTC	R553X	3272-26A>G
Q39X**	S341P**	A559T	L1065P**
E60X	R347H	R560T	R1066C
P67L	R347P	R560K**	R1066H
R75X	R352Q	1811+1.6kb A>G**	L1077P**
G85E	1213delT**	1812-1 G>A	W1089X
394delTT	1248+1G>A**	E585X**	Y1092X(C>A)
405+1 G>A**	1259insA**	1898+1G>A	Y1092X(C>G)**
406-1G>A	W401X (c.1202G>A)**	1898+3A>G**	M1101K
E92X	W401X (c.1203G>A)**	2143delT	E1104X**
E92K**	1341+1G>A**	R709X	R1158X
Q98X**	<i>PolyTG/PolyT</i>	K710X	R1162X
457TAT>G**	1461ins4**	2183delAA>G	3659delC
D110H	A455E	2184insA	S1196X
R117C	1525-1G>A**	2184delA	W1204X (c.3611G>A)**
R117H	S466X (C>A)**	2307insA	W1204X (c.3612G>A)**
Y122X	S466X (C>G)	L732X**	3791delC
574delA**	L467P**	2347delG**	3849+10kbC>T
621+1G>T	1548delG [†]	R764X	G1244E**
663delT	S489X**	2585delT**	3876delA
G178R	S492F**	E822X**	S1251N

711+1G>T	Q493X	2622+1G>A**	3905insT
711+3A>G**	I507del	E831X**	W1282X
711+5 G>A**	F508del	W846X	4005+1G>A**
712-1 G>T**	1677delTA	R851X**	N1303K
H199Y**	V520F	2711delT**	4016insT**
P205S	Q525X**†	2789+5G>A	Q1313X**
L206W	1717-8G>A	Q890X	4209TGTT>AA**
Q220X**	1717-1G>A	L927P**	CFTRdele22,23
852del22**	G542X	S945L**	4382delA**
1078delT	S549R (с.1645A>C)	3007delG**	<i>I506V</i>
G330X	S549R (с.1647T>G)	G970R**	<i>I507V</i>
R334W	S549N	3120G>A	<i>F508C</i>
I336K	G551D	3120+1G>A	

† Класифициран в базата данни на CFTR2¹⁵ като вариант, причиняващ CF, докато в доклада на Сосни (Sosnay)¹⁴ вариантът е класифициран като неопределен. Класификацията в базата данни е по-актуална и отразява завършеното функционално тестване, което не е било налично по време на публикацията на Сосни (Sosnay).

Чрез употребата на тест, който открива всички тези варианти, се очаква да се откриват поне 95,4% от причиняващите CF алели при пациенти със CF в групата от пациенти в проекта на CFTR2. Също така процентът на откриване на двойки в риск от създаване на дете с кистозна фиброза трябва да нарасне до ~91% от двойките, които употребяват този панел, в сравнение със 72% от двойките, които употребяват препоръчания от ACMG панел от 23 варианта¹⁴. Тези стойности обаче зависят от разпространението на варианта и неговата честота според разликата в географското положение и етническата принадлежност.

Назначаване на теста

- ▶ Този тест е предназначен за оценка на статуса за носителство за 139 клинично значими варианта на гена „трансмембранен регулатор на проводимостта при кистозна фиброза“ (*CFTR*), включително вариантите, препоръчани през 2004 г. от ACMG¹¹ и през 2011 г. от ACOG¹².
- ▶ Тестът е предназначен за употреба при възрастни в репродуктивна възраст.
- ▶ Тестът е предназначен за потвърдително диагностично тестване на новородени и деца.
- ▶ Този тест е предназначен като първоначален тест, който да помогне при диагностицирането на лица със съмнения за кистозна фиброза.



ВНИМАНИЕ

Този тест не се назначава за скрининг на новородени, фетално диагностично тестване, тестване преди имплантация или да бъде самостоятелно използван за диагностични цели.

- ▶ Анализът на 139 варианта на кистозна фиброза е за употреба само по лекарско предписание.

Характеристики на изпълнението на теста

Изпълнението на теста е основано на сравнение с два референтни метода, двупосочно секвениране по метода на Сейнджър и валидиран PCR анализ, за да се потвърди точността на анализа при откриването на въпросните 139 варианта. Поради редкостта на много от вариантите, включени в анализа, не беше възможно да се получат клинични спесимени за всички варианти. Следователно точността на откриване на определени варианти е установена чрез използването на изкуствени спесимени, съдържащи сложни плазмидни конструкции, смесени с „див тип“ ДНК, за да се симулират хетерозиготните спесимени. Анализът успя точно да

идентифицира вариантите, налични във всички проби, с > 99,99% крайна точност. Чрез проучване на възпроизводимостта, проведено в три потребителски обекта, се демонстрира, че анализът е възпроизводителен за откриването както на положителен вариант (99,77%), така и на отрицателен вариант (99,88%).

Ръководство за тълкуване на резултати

Резултатите от теста трябва да бъдат тълкувани в контекста на клинични находки, семейна история и други лабораторни данни. Молекулярното тестване може да не открие всички възможни мутации, водещи до CF. Отрицателен резултат не изключва възможността лицето да има неидентифицирана мутация на гена *CFTR*. Този тест трябва да се използва с друга налична лабораторна и клинична информация. Всички клинични тълкувания на откритите варианти трябва да бъдат направени от сертифициран от борда молекулярен патолог, клиничен молекулярен генетик или еквивалентен специалист. Препоръчва се лекарят, който назначава теста, да се консултира със сертифициран от борда клиничен медицински генетик или генетичен консултант. Пациентите също се съветват да потърсят консултация с генетичен консултант. Допълнителна информация може да бъде получена от Фондацията за кистозна фиброза (www.cff.org), Клиничната и функционална трансация на *CFTR* (*CFTR2*) (www.cftr2.org) и Американския колеж по медицинска генетика (www.acmg.net).

Ограничения на теста

- ▶ Получените резултати трябва да бъдат използвани и тълкувани в контекста на пълна клинична оценка.
- ▶ Продуктът е създаден да идентифицира конкретна подгрупа от известни варианти в гена *CFTR*, но не включва всички варианти, идентифицирани в гена *CFTR*. Следователно, ако даден вариант не е идентифициран, това не гарантира, че други варианти на *CFTR* не са налични в пробите, които се анализират.
- ▶ Докладването при определени условия се препоръчва от ACMG/ACOG за четири варианта, които се смятат за проблемни за тълкуване заради сложността на тяхната връзка с други варианти. Вариантите в анализа на 139 варианта на кистозна фиброза, докладвани при определени условия, се състоят от варианта от областта polyTG/polyT (който се докладва, когато е идентифициран варианта R117H) и доброкачествените варианти I506V, I507V и F508C¹⁶ (докладвани, когато са идентифицирани хомозиготни F508del или I507del).



ЗАБЕЛЕЖКА

Тъй като това е анализ, базиран на секвениране, няма намеса в докладването на F508del или I507del по отношение на трите доброкачествени полиморфизма. Следователно няма да бъдат направени никакви корекции на установения резултат.

- ▶ Анализът не може да определи дали ориентацията на варианта PolyTG/PolyT е в цис/транс спрямо варианта R117H. За пациенти с вариант R117H трябва да се извърши допълнително изследване, което да определи дали вариантът PolyTG/PolyT, който може да засегне клиничния фенотип (например 12-13(TG) или 5T), е в цис/транс ориентация спрямо варианта R117H.
- ▶ Вариантите, идентифицирани от този анализ, варират по честота сред различните популации.
- ▶ Макар че за някои варианти има много знания по отношение на тежестта на заболяването, за други информацията е ограничена и се основава на ограничен брой докладвани клинични случаи.
- ▶ За тези варианти, които са валидирани само чрез изкуствени спесимени (Таблица 2), се препоръчва лабораторията да потвърди наличието на такива варианти чрез друг валидиран метод, преди да докладва резултатите. Свържете се с вашата тестваща лаборатория, за да установите тяхната тестова процедура.
- ▶ Лабораторните грешки са редки, но е възможно да се случат. Основни разлики в ДНК на пациента или други аналитични фактори може да окажат въздействие върху резултатите от анализа и впоследствие да доведат до вземането или пропускането на решения.

Литература

- 1 Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, et al. (2008) Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr.* 153(2): S4–S14
- 2 Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Cutting GR. (2008) CFTR related disorders. *Gene Reviews.* Seattle (WA): University of Washington; 2008. Достъпно на www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1250. Актуализирано на 19 февруари 2008 г.
- 3 U.S. National Newborn Screening Status Report genes-r-us.uthscsa.edu/sites/genes-r-us/files/nbsdisorders.pdf Актуализирано на 6 януари 2013 г.
- 4 Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). www.genet.sickkids.on.ca/app. [Онлайн] септември 2013 г.
- 5 Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry: Annual Data Report 2010.
- 6 www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002052.html.
- 7 www.nlm.nih.gov/medlineplus/geneticdisorders.html.
- 8 Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Gibson RL, et al. (2008) Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR related disorders. *Genet Med.* 10(12): 851–868.
- 9 Katkin JP. (2012) Cystic fibrosis: Clinical manifestations and diagnosis. www.uptodate.com [Онлайн] декември 2012 г.
- 10 Rohlf EM, Zhou Z, Heim R, Nagan N, Rosenblum L, et al. (2011) Cystic Fibrosis Carrier Testing in an Ethnically Diverse US Population. *Clin Chem.* 57(6): 841–848.
- 11 Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, Driscoll DA, Klinger K, et al. (2004) Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel. *Genet Med.* 6(5): 387–391.
- 12 American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Committee on Genetics. (2011) The ACOG Committee Opinion No. 486: Update on Carrier Screening for Cystic Fibrosis. *Obstet Gynecol.* 117(4): 1028-31.
- 13 Bobadilla JL, Macek Jr. M, Fine JP, Farrell PM. (2002) Cystic Fibrosis: A Worldwide Analysis of CFTR Mutations—Correlation with Incidence Data and Application to Screening. *Human Mutation* 19:575–606.
- 14 Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, Kaniecki K, Yu H, et al. (2013) Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet.* 2013 Oct; 45(10): 1160-7.
- 15 Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). www.cftr2.org. [Онлайн] септември 2013 г.
- 16 Grody WW, Cutting GR, Klinger KW, Richards CS, Watson MS, Desnick RJ. (March/April 2001) Laboratory standards and guidelines for population-based cystic fibrosis carrier screening. *Genetics in Medicine* 3(2): 149–154.

Патенти и търговски марки

Настоящият документ и съдържанието му са собственост на Illumina, Inc. и нейните филиали („Illumina“) и са предназначени само за употреба по силата на договор от страна на клиента й във връзка с използването на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ, и с никаква друга цел. Този документ и съдържанието му не трябва да се използват или разпространяват за никаква друга цел и/или по друг начин да бъдат съобщавани, разкривани или възпроизведени по какъвто и да е начин без предварителното писмено съгласие от страна на Illumina. Illumina не предоставя посредством този документ никакъв лиценз за свой патент, търговска марка, авторско право или права по силата на общото право, нито подобни права на която и да е трета страна.

Инструкциите в този документ трябва да се следват строго и изрично от страна на квалифициран и правилно обучен персонал, за да се гарантират правилната и безопасната употреба на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ. Цялото съдържание на този документ трябва да бъде прочетено и разбрано напълно, преди да се използва(т) такъв(такива) продукт(и).

АКО ВСИЧКИ ИНСТРУКЦИИ, СЪДЪРЖАЩИ СЕ В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ, НЕ БЪДАТ НАПЪЛНО ПРОЧЕТИ И ИЗРИЧНО СПАЗВАНИ, ТОВА МОЖЕ ДА ДОВЕДЕ ДО ПОВРЕДА НА ПРОДУКТ(ИТЕ), НАРАНЯВАНЕ НА ЛИЦАТА, ВКЛЮЧИТЕЛНО НА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ ИЛИ ДРУГИ ЛИЦА, И УВРЕЖДАНЕ НА ДРУГО ИМУЩЕСТВО, И ЩЕ ОТМЕНИ ВСЯКАКВА ГАРАНЦИЯ, ПРИЛОЖИМА ЗА ПРОДУКТ(ИТЕ).

ILLUMINA НЕ ПОЕМА НИКАКВА ОТГОВОРНОСТ В РЕЗУЛТАТ НА НЕПРАВИЛНАТА УПОТРЕБА НА ПРОДУКТА(ИТЕ), ОПИСАН(И) В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ (ВКЛЮЧИТЕЛНО ТЕХНИ ЧАСТИ ИЛИ СОФТУЕР).

© 2021 Illumina, Inc. Всички права запазени.

Всички търговски марки са собственост на Illumina, Inc. или съответните им притежатели. За специфична информация относно търговските марки посетете www.illumina.com/company/legal.html.

AMPure, Beckman, and Beckman Coulter са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc.

Информация за контакт



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122, САЩ
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (извън Северна Америка)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Нидерландия

Спонсор в Австралия
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Австралия