

# ГАПЛОТИП CFTR ХРОМОСОМ З ПАТОГЕННИМ ВАРІАНТОМ с.2052-2053INS (2184insA) СЕРЕД ХВОРИХ НА МУКОВІСЦИДОЗ З УКРАЇНИ

С.А. КРАВЧЕНКО<sup>1,2\*</sup>, М.Я. ТИРКУС<sup>3,4</sup>, О. В. ТИЩЕНКО<sup>4,5</sup>,  
В.М. ПАМПУХА<sup>1</sup>, Г.В. МАКУХ<sup>4,5</sup>, Л.А. ЛІВШИЦЬ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. Заболотного 150, 03680, Київ, Україна

<sup>2</sup> Київський інститут Національної гвардії України, МВС України, вул. Оборони Києва 7, 03179, Київ, Україна

<sup>3</sup> ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ», вул. Лисенка, 31а, Львів, Україна

<sup>4</sup> ТОВ «Науковий медико-генетичний центр «ЛеоГен», вул. Максимовича 7г, Львів, Україна, 79059,

<sup>5</sup> Національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів Україна

\*E-mail: sergeyr1b3@gmail.com

Автор для кореспонденції – Кравченко С.А., e-mail: sergeyr1b3@gmail.com

*Враховуючи високу частоту 2184insA, виявлену в Західній Україні у хворих на муковісцидоз, метою даної роботи було провести молекулярно-генетичний аналіз гаплотипів МВ-хромосом з інсерцією 2184insA та внутрішньогенними мікросателітними локусами IVS8CA і VS17bTA, за порівняльним аналізом з даними інших досліджень визначити походження цієї мутації в Україні, а також надати оновлені дані про розподіл мутацій гена CFTR у хворих на муковісцидоз в Україні. Інсерція 2184insA виявилася другою найпоширенішою мутацією серед хворих на муковісцидоз в Україні, на яку припадає 7,3 % мутантних алелів гена CFTR. При цьому, найвища частка хромосом з цією мутацією (9,4 %) виявлена в когорті пацієнтів, які представляли західний регіон України. Проведений аналіз гаплотипів з використанням двох внутрішньогенних мікросателітних поліморфізмів (IVS8CA та IVS17bTA) на 68 хромосомах з мутацією 2184insA виявив спільне походження цієї мутації серед пацієнтів з України – вона була асоційована з мікросателітним гаплотипом 16-7/IVS8CA-IVS17bTA. Результати підтверджують попередню гіпотезу про те, що Галичина є найбільш вірогідним місцем походження мутації 2184insA, а досягнення нею такої високої частоти в західній частині України може бути пов'язане з ефектом регіонального засновника.*

**Ключові слова:** муковісцидоз, 2184insA, походження мутацій, CFTR, аналіз гаплотипів, IVS8CA, VS17bTA.

**Вступ.** Муковісцидоз (МВ) – найбільш розповсюджене аутосомно-рецесивне моногенне захворювання, яке обумовлене патогенними генетичними варіантами гена CFTR. На сьогоднішній день описано понад 2300 варіантів гена CFTR (<https://cftr2.org>), які мають різне клінічне значення. Серед патогенних варіантів найчастішим є F508del (с.1521\_1523delCTT), на

який припадає дві третини МВ-хромосом у світі, лише п'ять інших мутацій в гені CFTR мають відносну світову частоту понад 1 %. Спектр і частота цих варіантів суттєво варіюють в популяціях різного етнічного походження та демонструють географічні закономірності. Так, мутація G551D (с.1652G>A) найбільш поширена в північно-західній і центральній Європі, зокрема в ірландській, англійській, шотландській, бретонській та чеській популяціях, з найвищою частотою в Ірландії (6,9 %) (Cashman et al, 1995; Křenková et al, 2013). Мутація G542X (с.1624G>T) поширена в країнах Середземномор'я, а також присутня в більшості країн Європи, де спостерігається з наступними частотами: Словаччина (4,06 %), Болгарія (3,9 %) (Petrova et al., 2019), Туреччина (2,4 %) (Atag et al., 2019), Чехія (2,0 %) (Křenková et al., 2013). N1303K (с.3909C>G) зустрічається в більшості західних і середземноморських країн і має найвищу частоту в Тунісі (17,2 %) (Farhat et al., 2019). Мутація W1282X (с.3846G>A) зустрічається серед ашкеназі з частотою 31,3 % (Quint et al., 2005).

Відомі інші рідкісні мутації, які мають відносну світову частоту менше 1 %, при цьому досягають високих частот у певних регіонах: мутація 394delTT (с.262\_263delTT) у Фінляндії зустрічаються з частотою 35 %, а у сусідній Естонії – 13,3 % (Teder et al., 2000), мутація 3791delC (с.3659delC) сягає частоти 7,9 % у Швеції, та 5,9 % у Фінляндії (Kinnunen et al., 2005), 1677delTA (с.1545\_1546delTA) поширена в країнах, розташованих в регіоні Чорного моря і з найвищою частотою зустрічається в Туреччині (6,4 %) (Atag et al., 2019). Варіант CFTRdele2,3(21 kb) часто зустрічається в по-

пуляціях слов'янського походження – Чехії (5,75 %) (Křenková et al., 2013), Польщі (4,5 %) (Ziętkiewicz et al., 2014), Україні (5,1 %) (дане дослідження), в регіоні прилеглому до Балтійського моря – Латвії (3,8%) (Auzenbaha et al., 2022) та Фінляндії (5,9 %) (Kinnunen et al., 2005), а також Угорщині – (4,4 %) (Ivády et al., 2015). Географічне поширення делеції *CFTR*dele2,3(21 kb), а також генетичний аналіз профілю гаплотипів МВ-хромосом з цією мутацією дозволив припустити, що вона могла виникнути у слов'янській прабатьківській популяції (Dörk et al., 2000). Ще одним патогенним варіантом, який часто зустрічається в популяціях слов'янського походження є інсерція 2184insA (с.2052\_2053insA), яка призводить до зсуву рамки зчеплення. В роботі Макух та ін. (2010) повідомлялося, що 2184insA є другою найпоширенішою мутацією в Західній Україні з незвично високою частотою, що становить 7,2 % від усіх мутуваних алелів МВ. Разом з тим, в інших європейських країнах 2184insA виявляється з дуже низькою частотою, а за результатами аналізу *CFTR*-гаплотипів поліморфних локусів було зроблено припущення, що 2184insA могла виникати в результаті мультиплікативних подій (Castaldo et al., 2005).

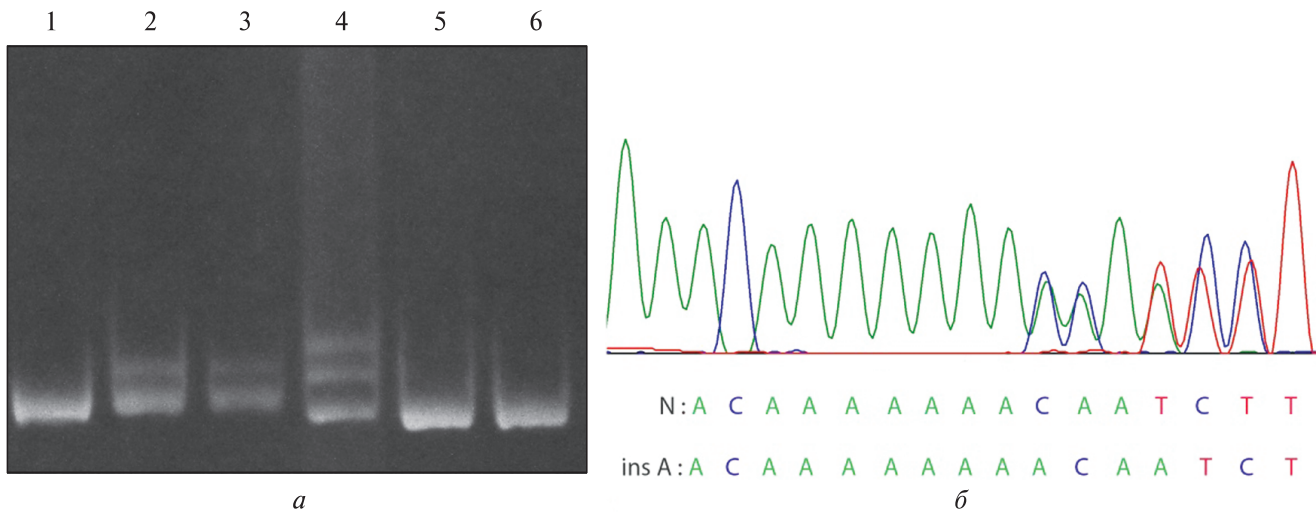
Знання про частоти генетичних мутацій у окремих регіональних популяціях є надзвичайно важливими для вивчення еволюції та історії народонаселення, вони дозволяють реконструювати історичні міграції, ізоляцію популяцій та зрозуміти механізми адаптації до навколишнього середовища. В свою чергу, розуміння закономірностей про частоту генетичних мутацій дозволяє ефективніше проводити діагностику та створювати регіональні програми з генетичного скринінгу і профілактики захворювання (Farrell et al., 2018; Mateu et al., 2002; Dörk et al., 2000; Morral et al., 1996; Pellen et al., 2024; Livshits and Kravchenko, 1996).

Враховуючи високу частоту 2184insA, виявлену в Західній Україні у хворих на муковісцидоз, метою даної роботи було провести молекулярно-генетичний аналіз гаплотипів МВ-хромосом з інсерцією 2184insA та внутрішньогенними мікросателітними локусами *IVS8CA* та *VS17bTA*; за порівняльним аналізом з даними інших досліджень визначити походження цієї мутації в Україні, а також надати оновлені

дані про розподіл мутацій гена *CFTR* у хворих на муковісцидоз в Україні.

**Матеріали і методи.** Створення колекції зразків ДНК. Матеріалом для дослідження слугували зразки банку ДНК хворих з клінічно підтвердженим діагнозом на муковісцидоз, яким проводилося молекулярно-генетичне дослідження найбільш розповсюджених мутацій гена *CFTR* в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, Київ (n = 247), а також ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ» та Науковому медико-генетичному центрі «Лео-Ген», Львів (n = 281). У дослідження включено пацієнтів із підтвердженим діагнозом муковісцидозу, внесених до реєстру пацієнтів з України хворих на муковісцидоз. Вибірка пацієнтів із західного регіону країни охоплює 281 (Львівська, Рівненська, Закарпатська, Волинська, Тернопільська, Хмельницька та Івано-Франківська області). Для проведення сегрегаційного аналізу з метою встановлення фази зчеплення мутації 2184insA з внутрішньогенними поліморфізмами *IVS8CA* та *VS17bTA* в дослідження додатково були залучені члени родин хворих на муковісцидоз – батьки та здорові сибси (за наявності). Виділення геномної ДНК та генотипування найбільш розповсюджених мутацій гена *CFTR* проводили з використання методик описаних в попередніх роботах (Livshits and Kravchenko, 1996; Makukh et al., 2010).

**Генотипування інсерції 2184insA та мікросателітних локусів *IVS8CA* та *VS17bTA*.** Аналіз мутації 2184insA проводили за допомогою гетеродуплексного аналізу продуктів ПЛР 13 екзону гена *CFTR* з подальшою валідацією мутації 2184insA за допомогою секвенування (рис. 1). Для проведення полімеразної ланцюгової реакції використовували наступні праймери: 5'-ATGGGATGTGATTCTTTTCGA-3', 5'-TCGTATAGAGTTGATTGGAT-3'. Ампліфікацію проводили за наступним температурним режимом: початкова денатурація: один цикл при температурі 95 °C впродовж 2 хв, основні цикли ампліфікації: 30 циклів, які включають денатурацію при 95 °C впродовж 30 с, відпал праймерів при 55 °C впродовж 40 с, елонгацію при 72 °C впродовж 60 с. Фінальна елонгація: один цикл при температурі 72 °C впродовж 5 хв. Перевіряли наявність продукту ПЛР (195 п.н.) на



Аналіз мутації 2184insA (ПЛР 13-го екзону, 8 % ПААГ): А) виявлення мутацій в 13-му екзоні гена *CFTR* шляхом утворення гетеродуплексу; 1, 5, 6 – індивіди з нормальною послідовністю 13-го екзону; 2,3 – індивіди з мутацією 2184insA; 4 – індивід з мутацією 2143delT. Б) валідація 2184insA за допомогою секвенування, (ABI 3130, Applied Biosystems)

2%-вому агарозному гелі. Електрофоретичне розділення проводили в 8%-вому поліакриламідному гелі (ПААГ). Перед нанесенням на ПААГ проводили денатурування продуктів ПЛР впродовж 5 хв та швидке охолодження з метою формування гетеродуплексів ДНК. Електрофорез проводили при 170 В, 100 мА, 20 Вт впродовж 240 хв. Після електрофорезу гель забарвлювали бромистим етидієм. Наявність та характер гетеродуплексних смуг на електрофореграмі підтверджує присутність мутацій в досліджуваних зразках (рисунок).

Генотипування внутрішньогенних мікросателітних локусів *IVS8CA* та *IVS17BTA* проводили з використанням ПЛР за умов описаних раніше (Morrall and Estivill, 1992). Фрагментний аналіз продуктів ПЛР проводили за допомогою лазерного флуориметра ALF-Express II, при цьому 1 мкл продукту ПЛР змішували з 4 мкл 95%-вого розчину формаміду, окрім того, суміш містила стандартні маркери. Після денатурації впродовж 3 хв при 95 °С суміш наносили на 8%-вий поліакриламідний гель, що містив 0,6 × TBE і 7М сечовину. Електрофорез проводили при 55 °С, 1000 В, 50 мА, 30 Вт впродовж 80 хв. Визначення алельних варіантів мікросателітних локусів *IVS8CA* та *IVS17BTA* проводили за допомогою програми FM2.1 (Fragment Manager Software V2.1, «Pharmacia»).

**Результати.** За результатами аналізу проведеного в попередніх дослідженнях (Dörk et al., 2000; Makukh et al., 2010) та поточного дослідження, включаючи генотипування мутації 2184insA, були отримані дані розподілу мутацій гена *CFTR* серед хворих на муковісцидоз з України. У дослідженій вибірці було ідентифіковано 42 різних патогенних варіантів, найбільш розповсюджені з яких (частота > 1 % в Україні) наведено в таблиці.

Найвища частка хромосом з інсерцією 2184insA серед хворих на МВ виявлена в когорті пацієнтів, які проходили обстеження в Інституті спадкової патології НАМН України (ІСП НАМНУ, Львів) та представляють західний регіон України – 9,4 % мутантних алелів *CFTR*. Це друга за частотою мутація після F508del в цьому регіоні, і водночас є найвищою, за результатами усіх проведених досліджень в регіональних популяціях на теперішній час. Схожий розподіл мутацій гена *CFTR* був отриманий при тестуванні, проведеному в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України (ІМБГ НАНУ, Київ) у пацієнтів з МВ, які переважно представляли центральні та східні регіони України. За результатами тестування інсерцію 2184insA було виявлено у 4,9 % пацієнтів, частіше зустрічалися мажорна мутація F508del (53,6 %)

та делеція *CFTRdele2,3(21kb)* (6,7 %), яка є досить поширеною в популяціях слов'янського походження. Загалом, 2184insA виявилась другою найпоширенішою мутацією в Україні, на яку припадає 7,3 % мутантних алелів гена *CFTR* (таблиця). Варто також відзначити, що за результатами тестування найпоширеніших МВ-мутацій серед 520 здорових жінок (донорів ооцитів) було виявлено дві пацієнтки (0,19 %), які були носіями мутації 2184insA в гетерозиготному стані (дані не представлено). Ця цифра узгоджується з очікуваною частотою гетерозиготного носійства попередньо розрахованою на основі поширеності 2184insA серед пацієнтів з МВ (Макух et al., 2010).

Для перевірки гіпотези про спільне походження другої за частотою мутації серед МВ-пацієнтів з України, було проведено аналіз гаплотипів інсерції 2184insA (13 екзон гена *CFTR*) та двох внутрішньогенних мікросателітних поліморфізмів, які її фланкують – IVS8CA та IVS17bTA, що розташовані в 8 та 17 інтронах гена *CFTR* відповідно. Для визначення профілю гаплотипів за цими поліморфізмами було проведено генотипування 68 хромосом з мутацією 2184insA. При цьому, для встановлення фази зчеплення інсерції з мікросателітними поліморфізмами крім хворих на МВ до аналізу залучалися їхні батьки, а також здорові сибси (брати та сестри). Таким чином, було підтверджено, що 46 хромосом з мутацією 2184insA несуть гаплотип 16-7 для

локусів IVS8CA та IVS17bTA відповідно. Для 21 МВ-хромосоми не вдалося встановити гаметичну фазу для одного з двох мікросателітних маркерів, проте у всіх цих випадках алелі 16 і 7 були присутні в генотипі пацієнтів. Варто зазначити, що в таких випадках профіль гаплотипа з інсерцією 2184insA вдалося встановити коли був відомий IVS8CA/IVS17bTA-гаплотип для іншої компаундної мутації МВ-пацієнта. Наприклад, для мутації F508del – це наступні гаплотипи – (17,23-IVS8CA/31,32-IVSbTA) (Mateu et al., 2002). Таким чином, серед проаналізованих 68 хромосом з мутацією 2184insA, 67 хромосом мали гаплотип 16-7 за локусами IVS8CA, IVS17bTA відповідно, при цьому у одного пацієнта профіль гаплотипу за даними маркерами виявився наступним – 23-31.

**Обговорення.** Виявлена висока частота мутації 2184insA в західному регіоні України (9,4 %) спонукала до проведення подальших досліджень про поширеність цього алеля серед хворих на МВ у сусідніх регіонах. Так, у межах поточного дослідження у пацієнтів з МВ, які переважно представляли центральні та східні регіони України дану мутацію було виявлено у 4,9 % пацієнтів. За даними літератури інсерція 2184insA з відносно високою частотою також спостерігалася у сусідніх країнах – Угорщині (4,4 %) (Ivány et al., 2015), Болгарії (2,89 %) (Petrova et al., 2019), Туреччині (1,8 %) (Atag et al., 2019), Словаччині (1,58 %) (Křenková et al., 2013); Польщі (1,02 %)

**Розподіл найбільш розповсюджених мутацій гена *CFTR* (частота > 1 %) серед МВ-пацієнтів з України в даному дослідженні**

| CFTR варіант                   | ІСП Львів (n = 281) |      | ІМБГ Київ (n = 247) |      | Разом (n = 528) |      |
|--------------------------------|---------------------|------|---------------------|------|-----------------|------|
|                                | N алелів            | %    | N алелів            | %    | N алелів        | %    |
| F508del (c.1521_1523delCTT )   | 329                 | 58,5 | 265                 | 53,6 | 594             | 56,3 |
| 2184insA (c.2052_2053insA)     | 53                  | 9,4  | 24                  | 4,9  | 77              | 7,3  |
| <i>CFTRdele2,3(21kb)</i>       | 21                  | 3,7  | 33                  | 6,7  | 54              | 5,1  |
| N1303K (c.3909C>G )            | 34                  | 6,0  | 10                  | 2,0  | 44              | 4,2  |
| G542X (c.1624G>T )             | 27                  | 4,8  | 9                   | 1,8  | 36              | 3,4  |
| 3849+10kbC>T (c.3717+12191C>T) | 12                  | 2,1  | N/A                 | N/A  | 12              | 2,1  |
| 2143delT (c.2012delT)          | 3                   | 0,5  | 8                   | 1,6  | 11              | 1,0  |
| W1282X (c.3846G>A)             | 4                   | 0,7  | 6                   | 1,2  | 10              | 0,9  |

Примітка. \* N – кількість виявлених алелів, % – відсоток, N/A – не аналізувалося.

(Ziętkiewicz et al., 2014), а також центральному регіоні Італії – Умбрії (2,4 %) (Prontera et al., 2017). В ряді інших європейських країн, зокрема в Чехії, Латвії, Сербії, Німеччині, Англії цю мутацію було виявлено з частотою меншою за 1 % (<https://cftr2.org>).

Глибоке розуміння спадкового захворювання, зокрема муковісцидозу, вимагає не лише знань його етіології, патогенезу, функціональних основ, але й опису його природної історії – виникнення патогенного варіанту, пояснення його високої частоти та географічного поширення. Низку робіт було присвячено дослідженню популяційних факторів, які формували генетичну архітектуру МВ, а саме, характеру та рівню мутацій, генетичному дрейфу, потоку генів, розміру популяцій та природньому добору. Найбільш вивченою у цьому аспекті, безсумнівно, є найбільш розповсюджена мутація F508del, а також мутації, які превалюють в певних популяціях та етнічних групах (Fargell et al., 2018; Mateu et al., 2002; Pellen et al., 2024; Dörk et al., 2000; Castaldo et al., 2005). Так, численними дослідженнями було підтверджено гіпотезу, що найвпливовішим фактором, який спричинив високу поширеність МВ серед народів європейського походження є селективна перевага носіїв найпоширенішої мутації гена *CFTR* F508del до туберкульозу порядку 2–5 % у кожному поколінні (Romeo et al., 1989; Mowat and Werpachowska, 2015). Дрейф генів може суттєво впливати на генетичну структуру популяції, особливо, коли чисельність її різко зменшується (ефект «шийки пляшки»), а генфонд наступних поколінь визначає невелика група осіб (ефект засновника). Класичним прикладом популяції, яка в процесі свого формування проходила етапи «пляшкової шийки», є Фінляндія, де сформувалася власна спадщина хвороб, з характерним розподілом і поширеністю генетичних мутацій, що їх спричинюють. Наприклад, досить рідкісна мутація 394delTT (0,02 % за даними бази CFTR2) у Фінляндії зустрічається з частотою 35 % (Kinnunen et al., 2005). Міграційні процеси, або потік генів між популяціями вносять також вагомий вклад в зростання мінливості частоти МВ-мутацій в окремих популяціях. Так, за допомогою генотипування внутрішньогенного мікросателітного гаплотипу (IVS8CA/IVS17bTA)

було доведено, що «слов'янська» мутація CFTRdele2,3(21 kb) могла бути занесена до Фінляндії з Східної Європи, де гаплотип 16-33 (IVS8CA IVS17bTA) був виявлений у всіх хромосомах з CFTRdele2,3(21 kb), де наразі зустрічається з досить високою частотою – 5,9 % (Dörk et al., 2000; Kinnunen et al., 2005). Нарешті, нові мутації (*de novo*), які є первинним джерелом генетичної мінливості, вносять свій внесок у формування «популяційної архітектури» спадкових захворювань, зокрема, муковісцидозу (Hong et al., 2024)

Аналіз гаплотипів за внутрішньогенними та фланкуючими поліморфізмами широко застосовується для дослідження мутацій в гені *CFTR*, а саме, їх походження – географічного, вікового, одноподійного чи рекурентного, а також подальшого поширення. В ряді досліджень за результатами аналізу трьох внутрішньогенних поліморфізмів (IVS8CA, IVS17bTA і IVS17bCA) було доведено незалежне походження ряду мутацій гена *CFTR* на хромосомах з різними гаплотипами – R334W (с.1000C>T), R347P (с.1040G>C), R1162X (с.3484C>T), 3849+ + 10kbC-T (с.3717+12191C>T), 1717-1G>A (с.1585-1G>A), E585X (с.1753G>T), L558S (с.1673T>C) та інших і, зокрема, інсерції 2184insA (Castaldo et al., 2005; Morral et al., 1996). Цю мутацію було виявлено на різних гаплотипах за локусами IVS8CA та IVS17bTA в наступних популяціях – 16-24 у пацієнта з Англії; 16-29 у пацієнта з Італії; 16-45 у пацієнта з Німеччини; 16-7 у пацієнта з Торонто; 16-30 (2 гаплотипа) та 17-30 у пацієнтів з Туреччини (Morral et al., 1996; Hughes et al., 1996). Натомість, в нашому дослідженні серед проаналізованих 68 хромосом з мутацією 2184insA 67 хромосом мали гаплотип 16-7 за локусами IVS8CA, IVS17bTA, який відрізнявся від тих, що спостерігаються у вищезгаданих країнах, за виключенням гаплотипа, виявленого у пацієнта з Торонто. Варто відзначити, що українська діаспора в Канаді є однією з найбільших, а перші хвилі переселенців українського походження прибували переважно з Західної України. Проте, однозначне твердження, що мутація 2184insA, виявлена у пацієнта з Канади має спільне походження з мутаціями, виявленими серед МВ-пацієнтів з України, потребує додаткового розширеного аналізу гаплотипів

із залученням більшої кількості поліморфних маркерів, як і для пояснення походження мутації 2184insA на гаплотипі 23-31, виявленого у одного пацієнта з нашого дослідження. Отже, наші дані узгоджуються з гіпотезою, запропонованою раніше, про те, що інсерція 2184insA могла виникнути в результаті мультиплікативних подій. При цьому, рекурентність є більш вірогідним поясненням виявленого різноманіття гаплотипів з мутацією 2184insA, ніж імовірність подвійних рекомбінацій, або однарних рекомбінацій в поєднанні з імовірністю мутацій в мікросателітних локусах. На користь цього, крім зафіксованих фактів різноманіття гаплотипів з 2184insA у інших популяціях, свідчать також відомі дані, що природа, частота та розташування мутацій *de novo* визначаються специфічними характеристиками локального оточення послідовності ДНК. Наразі визнано, що мононуклеотидні тракти є гарячими точками для мікроінсерцій та мікрodelецій, які спричиняють генетичні захворювання людини (Cooper et al., 2011). Також було показано, що олігонуклеотиди розміром 5–7 п.н., які містять аденінові гомонуклеотидні тракти часто розташовані поблизу мікрodelецій та мікроінсерцій (Ball et al., 2005). Саме таке оточення ДНК послідовності (7 аденінових нуклеотидів) характерне для інсерції 2184insA (рисунок, б). Варто також відзначити дослідження на експериментальних системах дріжджів з мутацією в гені репарації, результати яких показали, що частота одонуклеотидних інсерцій в оточенні коротких гомонуклеотидних трактів збільшувалася майже в 100 разів в порівнянні з частотою одонуклеотидних delецій (Kirchner et al., 2000).

Слов'янське походження мутації 2184insA було вперше припущено в роботі, де було встановлено градієнт частоти мутації CFTRdele2,3 (21kb) зі сходу на захід та існування спільної підмножини CFTR мутацій серед центрально- та східноєвропейських популяцій слов'янського походження (Dörk et al., 2000). Раніше було висунуто гіпотезу про те, що кандидатами на місце походження МВ-мутацій можуть бути саме ті популяції де гаплотип, який асоційований з досліджуваною мутацією, є найпоширенішим серед «нормальних» хромосом (Mateu et al., 2002). В нашому дослідженні гаплотип

16-7 за локусами IVS8CA, IVS17bTA виявився найпоширенішим – 35 % серед «нормальних» хромосом у пацієнтів із Західної України. Три області Західної України: Львівська, Тернопільська та Івано-Франківська, де проживала більшість пацієнтів з мутацією 2184insA, становили ядро історичної Галичини. Крім того, 19 пацієнтів, включаючи трьох гомозигот за цією мутацією, проживали у Львівській області Західної України (географічне розташування 49°50.2956' пн.ш., 24°1.3944' сх.д.). Враховуючи ці факти, ми припускаємо, що Галичина є найбільш вірогідним місцем походження мутації 2184insA.

Причину надзвичайно високої частоти варіанту с.2052-2053ins (2184insA), виявленої в Західній Україні (9,4 %), можна пояснити ефектом регіонального засновника, в результаті якого невелика група осіб визначає генотип наступних поколінь. Це призводить до зміни генетичної структури популяції, зокрема, спостерігається підвищення частоти гомозиготних генотипів. В нашому дослідженні виявлено трьох пацієнтів, які були гомозиготами за мутацією 2184insA і проживали на цій локальній території, підтверджує припущення, що даний регіон під час свого формування проходив етап «пляшкової шийки», що і могло призвести до зростання частоти алеля з інсерцією 2184insA на території Галичини.

Західна Україна розташована в стратегічному місці в самому центрі Центральної Європи, у минулому вона була частиною Великої Моравії, Київської Русі, Галицько-Волинської держави, Речі Посполитої, Австро-Угорської імперії, Польської Республіки та колишнього Радянського Союзу. Карпатський регіон з давніх часів був перехрестям міграцій багатьох народів, які призводили до зростання потоку генів між популяціями. Цим, в першу чергу, можна пояснити, що мутацію 2184insA саме на гаплотипі 16-7 (IVS8CA, IVS17bTA) було виявлено у 4,9 % пацієнтів, які представляли центральні та східні регіони України. Відносно високу частоту мутації 2184insA, що спостерігалася у сусідніх країнах – Угорщині Словаччині, Болгарії, Польщі, Чехії – також певною мірою можна пояснити міграційними процесами. Проте, для підтвердження спільного походження інсерції 2184insA необхідно провес-

ти аналіз гаплотипів серед МВ-пацієнтів з цих сусідніх країн, що може бути предметом подальших досліджень.

**Висновки.** Інсерція 2184insA є другим найпоширенішим патогенним варіантом серед хворих на муковісцидоз з України, на який припадає 7,3 % мутантних алелів гена *CFTR*. При цьому, найвища частка хромосом з цією мутацією (9,4 %) виявлена в когорті пацієнтів, які представляли західний регіон України. Проведений аналіз гаплотипів з використанням двох внутрішньогенних мікросателітних поліморфізмів (IVS8CA та IVS17bTA) на 68 хромосомах з мутацією 2184insA виявив спільне походження цієї мутації серед пацієнтів з України, яка була асоційована з мікросателітним гаплотипом 16-7/IVS8CA-IVS17bTA. Результати підтверджують попередню гіпотезу про те, що Галичина є найбільш вірогідним місцем походження мутації 2184insA, а досягнення нею такої високої частоти в західній частині України може бути пов'язане з ефектом регіонального засновника.

**Дотримання етичних стандартів.** Відповідність досліджень біоетичним стандартам схвалено: Комітетом з питань біоетики Державної установи «Інститут спадкової патології НАМН України», протокол № 81 засідання від 03.06.2025 р. та Комісією з біоетики Інституту молекулярної біології та генетики НАН України, протокол № 46 від 18.06.2025 року. Усі пацієнти дали згоду на участь у дослідженні.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфліктів інтересів.

**Фінансування.** Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючи установ у державному, комерційному або некомерційному секторах.

CFTR HAPLOTYPE WITH c.2052-2053INS (2184insA) PATHOGENIC VARIANT AMONG PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS FROM UKRAINE

S.A. Kravchenko, M.Y. Tyrkus, O.V. Tyshchenko, V.M. Pampukha, H.V. Makukh, L.A. Livshits

Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, 150 Zabolotnogo str., 03680, Kyiv, Ukraine  
Kyiv Institute of the National Guard of Ukraine, MIA of Ukraine, 7 Oborony Kyieva str., 03179, Kyiv, Ukraine

Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences Ukraine, 79000, Lysenko str. 31-a, Lviv, Ukraine  
Medical Scientific Genetic Center «Leogene, LTD», Lviv, Ukraine  
Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

E-mail: sergeyr1b3@gmail.com, marta\_t@ukr.net, oksana.v.tyshchenko@gmail.com, dnatest.imbg@gmail.com, makukh\_halya@ukr.net, livshits@edu.imbg.org.ua

Considering the high frequency of 2184insA detected in Western Ukraine in patients with cystic fibrosis, the aim of this study was to conduct a molecular genetic analysis of CF chromosome haplotypes with 2184insA insertion and intragenic microsatellite loci IVS8CA and VS17bTA, to determine the origin of this mutation in Ukraine by comparative analysis with other studies, and to provide updated data on the distribution of *CFTR* gene mutations in CF patients in Ukraine. The 2184insA insertion was found to be the second most prevalent mutation among cystic fibrosis patients in Ukraine, accounting for 7.3 % of mutant alleles of the *CFTR* gene. At the same time, the highest proportion of chromosomes with this mutation (9.4 %) was found in a cohort of patients from the western region of Ukraine. The haplotype analysis using two intragenic microsatellite polymorphisms (IVS8CA and IVS17bTA) on 68 chromosomes with the 2184insA mutation revealed a common origin of this mutation among patients from Ukraine – it was associated with the microsatellite haplotype 16-7/IVS8CA-IVS17bTA. The results support the previous hypothesis that Galicia is the most likely place of origin of the 2184insA mutation, and that its high frequency in the western part of Ukraine may be due to the regional founder effect.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Atag, E., Bas Ikizoglu, N., Ergenekon, A., et al., Novel mutations and deletions in cystic fibrosis in a tertiary cystic fibrosis center in Istanbul, *Pediatric pulmonology*, 2019, vol. 54, pp. 743–750. <https://doi.org/10.1002/ppul.24299>
- Auzenbaha, M., Aleksejeva, E., Taurina, G., et al., Clinical and Genetic Characterisation of Cystic Fibrosis Patients in Latvia: A Twenty-Five-Year Experience, *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 2022, vol. 12, no. 11, pp. e2893. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112893>
- Ball, E.V., Stenson, P.D., Abeyasinghe, S.S., et al., Microdeletions and microinsertions causing human genetic disease: common mechanisms of mutagenesis and the role of local DNA sequence complexity, *Human mutation*, 2005, vol. 26, pp. 205–213. <https://doi.org/10.1002/humu.20212>

- Cashman, S., Patino, A., Delgado, G., et al., The Irish cystic fibrosis database, *J. Med. Genet.*, 1995, vol. 32, pp. 972–975. <https://doi.org/10.1136/jmg.32.12.972>
- Castaldo, G., Polizzi, A., Tomaiuolo, R., et al., Comprehensive cystic fibrosis mutation epidemiology and haplotype characterization in a southern Italian population, *Ann. Human Genet.*, 2005, vol. 69, pp. 15–24. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2004.00130.x>
- Cooper, D.N., Bacolla, A., Férec, C., et al., On the sequence-directed nature of human gene mutation: the role of genomic architecture and the local DNA sequence environment in mediating gene mutations underlying human inherited disease, *Human Mutat.*, 2011, vol. 32, pp. 1075–1099. <https://doi.org/10.1002/humu.21557>
- Dörk, T., Macek, M., Jr, Mekus, F., et al., Characterization of a novel 21-kb deletion, CFTRdele2,3(21 kb), in the CFTR gene: a cystic fibrosis mutation of Slavic origin common in Central and East Europe, *Human Genet.*, 2000, vol. 106, pp. 259–268. <https://doi.org/10.1007/s004390000246>
- Farhat, R., Pasquet, M., Corbani, S., et al., Is Phoenicia the Origin of the N1303K CFTR Mutation?, *Int. J. Rare. Dis. Disord.*, 2019, vol. 2, pp. e006. <https://doi.org/10.23937/ijrdd-2017/1710006>
- Farrell, P., Férec, C., Macek, M. et al., Estimating the age of p.(Phe508del) with family studies of geographically distinct European populations and the early spread of cystic fibrosis, *Eur. J. Hum. Genet.*, 2018, vol. 26, pp. 1832–1839. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0234-z>
- Hong, J., Tindall, J., Tindall, S.R. and Sorscher, E.J., Mutation accumulation in *H. sapiens* F508del CFTR countermands dN/dS type genomic analysis, *PLoS One*, 2024, vol. 19, pp. e0305832. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305832>
- Hughes, D., Wallace, A., Taylor, J., et al., Fluorescent multiplex microsatellites used to define haplotypes associated with 75 CFTR mutations from the UK on 437 CF chromosomes, *Human Mutat.*, 1996, vol. 8, pp. 229–235. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1996\)8:3<229::AID-HUMU6>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1996)8:3<229::AID-HUMU6>3.0.CO;2-4)
- Iványi, G., Koczok, K., Madar, L., et al., Molecular Analysis of Cystic Fibrosis Patients in Hungary – An Update to the Mutational Spectrum, *J. Med. Biochem.*, 2015, vol. 34, pp. 46–51. <https://doi.org/10.2478/jomb-2014-0055>
- Kinnunen, S., Bonache, S., Casals, T., et al., Spectrum of mutations in CFTR in Finland: 18 years follow-up study and identification of two novel mutations, *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2005, vol. 4, pp. 233–237. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2005.06.002>
- Kirchner, J. M., Tran, H., and Resnick, M. A., A DNA polymerase epsilon mutant that specifically causes +1 frameshift mutations within homonucleotide runs in yeast, *Genetics*, 2005, vol. 155, pp. 1623–1632. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.4.1623>
- Křenková, P., Piskáčková, T., Holubová, A., et al., Distribution of CFTR mutations in the Czech population: positive impact of integrated clinical and laboratory expertise, detection of novel/de novo alleles and relevance for related/derived populations, *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2013, vol. 12, pp. 532–537. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.12.002>
- Livshits, L., and Kravchenko, S., Cystic Fibrosis in Ukraine: age, origin and tracing of the delta F508 mutation, *Gene geography: a computerized bulletin on human gene frequencies*, 1996, vol. 10, pp. 219–227. PMID: 9263776
- Makukh, H., Krenková, P., Tyrkus, M., et al., A high frequency of the Cystic Fibrosis 2184insA mutation in Western Ukraine: genotype-phenotype correlations, relevance for newborn screening and genetic testing, *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2010, vol. 9, pp. 371–375. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2010.06.001>
- Mateu, E., Calafell, F., Ramos, M. D., et al., Can a place of origin of the main cystic fibrosis mutations be identified?, *Amer. J. Human Genet.*, 2002, vol. 70, pp. 257–264. <https://doi.org/10.1086/338243>
- Morral, N., Dörk, T., Llevadot, R., et al., Haplotype analysis of 94 cystic fibrosis mutations with seven polymorphic CFTR DNA markers, *Human Mutat.*, 1996, vol. 8, pp. 149–159. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1996\)8:2<149](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1996)8:2<149)
- Morral, N., and Estivill, X., Multiplex PCR amplification of three microsatellites within the CFTR gene, *Genomics*, 1992, vol. 13, pp. 1362–1364. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(92\)90071-y](https://doi.org/10.1016/0888-7543(92)90071-y)
- Mowat, A., and Werpachowska, A., Why does cystic fibrosis (CF) show the prevalence and distribution observed in human populations? *J. Cystic Fibrosis*, 2015, vol. 14, p. S56. [https://doi.org/10.1016/S1569-1993\(15\)30178-8](https://doi.org/10.1016/S1569-1993(15)30178-8).
- Pellen, N., Reste, J.L., and Argouarc’h, J., Modelling the spread of cystic fibrosis in Brittany using genealogical data over five centuries, *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2024, vol. 23, pp. 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2023.11.007>
- Petrova, G., Yaneva, N., Hrbková, J., et al., Identification of 99 % of CFTR gene mutations in Bulgarian-, Bulgarian Turk-, and Roma cystic fibrosis patients, *Mol. Genet. Genom. Med.*, 2019, vol. 7, pp. e696. <https://doi.org/10.1002/mgg3.696>
- Prontera, P., Isidori, I., Mencarini, V., et al., A Clinical

- and Molecular Survey of 62 Cystic Fibrosis Patients from Umbria (Central Italy) Disclosing a High Frequency (2.4 %) of the 2184insA Allele: Implications for Screening, *Public Health Genom.*, 2017, vol. 19, pp. 336–341. <https://doi.org/10.1159/000450849>
- Quint, A., Lerer, I., Sagi, M., and Abeliovich, D., Mutation spectrum in Jewish cystic fibrosis patients in Israel: implication to carrier screening, *Amer. J. Med. Genet. Part A*, 2005, vol. 136, pp. 246–248. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30823>
- Romeo, G., Devoto, M., and Galletta, L.J., Why is the cystic fibrosis gene so frequent?, *Human Genet.*, 1989, vol. 84, pp. 1–5. <https://doi.org/10.1007/BF00210660>
- Teder, M., Klaassen, T., Oitmaa, E., et al., Distribution of CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients from Estonia, *J. Med. Genet.*, 2000, vol. 37, pp. e16. <https://doi.org/10.1136/jmg.37.8.e16>
- Ziętkiewicz, E., Rutkiewicz, E., Pogorzelski, A., et al., CFTR mutations spectrum and the efficiency of molecular diagnostics in Polish cystic fibrosis patients, *PloS One*, 2014, vol. 9, pp. e89094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089094>

Надійшла в редакцію 12.08.2025

Після доопрацювання 20.09.2025

Прийнята до друку 18.01.2026