

pancreatic insufficiency in adults: A shared position statement of the Italian association for the study of the pancreas. In: World J. Gastroenterol, 2013 November 28; nr. 19(44), p. 7930-7946.

11. Ewald N., Bretzel R.G., Study Group: *Pancreatin therapy in patients with insulin-treated diabetes mellitus and exocrine pancreatic insufficiency according to low fecal-elastase-1 concentration. Results of a prospective multi-centre trial.* In: Diab. Metab. Res. Rev., 2007; nr. 23, p. 386-391.
12. Author Members of the Homocysteine Studies Collaboration: R. Clarke, MD, R. Collins, M. *Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis.* JAMA, 2002; nr. 288, p. 2015-2022.
13. Губуергриц Н. *Практическая панкреатология,* 2006; с. 269-311.
14. Czako L, Takacs T, Hegyi P. et al. *Quality of life assessment after pancreatic enzyme replacement therapy in chronic pancreatitis.* In: Can. J. Gastroenterol., 2003; nr. 17, p. 597-603.

Natalia Porcereanu, doctorandă,
Clinica medicala nr. 1, Disciplina Sinteze Clinice,
Departamentul Medicina Internă,
USMF Nicolae Testemițanu
Tel: 022-44-63-02
E-mail : nataliaporcereanu@yahoo.com

MUTAȚIA GENICĂ R117H (CFTR) LA PACIENȚII CU PANCREATITĂ CRONICĂ DIN REPUBLICA MOLDOVA

Rodica BUGAI¹, Nicolae BARBACAR², Ion ȚÎBÎRNĂ¹,
¹USMF Nicolae Testemițanu,
²Laboratorul de Genetică Moleculară al
Institutului de Genetică al AȘM

Summary

R117H (CFTR) gene mutation in the patients with chronic pancreatitis from the Republic of Moldova

Genetic studies in recent decades have proven the importance of CFTR gene mutations in the pathophysiology of chronic pancreatitis (CP). The aim of the study was to determine the frequency of R117H (CFTR) mutation in CP patients in Moldova vs healthy people. The results revealed a higher, statistically significant, frequency of the mutation R117H (CFTR) in CP patients vs healthy people, in homozygous variant, predominantly in the patients with latent CP and a frequent combination with the other mutations (N34S/SPINK1 and R122H/PRSS1), which reflects the high degree of risk posed by these mutations in the heterogeneous population of Moldova.

Keywords: chronic pancreatitis, R117H /CFTR

Резюме

Мутация гена R117H (CFTR) у больных с хроническим панкреатитом в Республике Молдова

Генетические исследования последних десятилетий доказали важность мутаций гена CFTR в патофизиологии хронического панкреатита (ХП). Цель исследования состояла в том, чтобы определить частоту мутаций R117H (CFTR) у больных с ХП в Молдове и у здоровых людей. Результаты выявили более высокую, статистически значимую, частоту мутации R117H (CFTR) у больных с ХП по сравнению со здоровыми, преимущественно в гомозиготном варианте у пациентов с латентным ХП и частые комбинации с другими мутациями (N34S/SPINK1 и R122H/PRSS1), что отражает высокую степень риска, связанного с этими мутациями, в гетерогенной популяции Республики Молдовы.

Ключевые слова: хронический панкреатит, R117H (CFTR)

Introducere

Progresele înregistrate în domeniul geneticii au demonstrat că factorii genetici joacă un rol important în susceptibilitatea față de agresiunile pancreatice, în severitatea și evoluția procesului inflamator. Mutațiile genei, ce codifică regulatorul de conducere transmembranar al fibrozei chistice (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – CFTR) au o prevalență înaltă la pacienții cu pancreatită cronică (PC) de diferită etiologie. CFTR codifică o proteină transmembranară de pe suprafața majorității celulelor epiteliale și funcționează ca un canal AMF-ciclic, ce permite trecerea anumitor anioni prin peretele celular (Cl⁻, HCO₃⁻ ș.a.), datorită gradientului lor electrochimic [5], fiind în același timp reglator al altor canale ionice, de ex. canalul epitelial de sodiu (ENaC – epitelial sodium channel) și a unui grup de transportori de bicarbonați (SLC26) [3].

Este de menționat că CFTR e un canal reglat anionic, ce se deschide sub influența hormonilor secretați în duoden, a polipeptidei intestinale vasoactive (VIP) prin creșterea AMF ciclic sau a factorilor ce majorează nivelul de calciu [5, 2]. Reglarea se produce și prin intermediul WNK1, SPAK/OSR1, care inhibă antiporterul clorid-bicarbonat (SLC26a6) [Park HW et al., 2010].

În mod normal, proteina CFTR conduce clorurile și tiocinanurile, încărcate negativ, în afara celulei epiteliale. În rezultat se formează un gradient electric și ionii de sodiu, încărcăți pozitiv, se mișcă în aceeași direcție ca și clorura printr-o cale paracelulară, cu ieșirea apei din celulă prin osmoză și formarea unui mucus mai lichid. În cazul mutațiilor la nivelul CFTR se formează secreții vâscoase, ce obturează bronhiile, canalele pancreatice, căile biliare, canalele deferente (structuri prin care circulă lichidul spermatic).

Studii mai recente au demonstrat că canalul CFTR, modificat genetic, nu transportă nici antioxidanții în interiorul celulei, pentru a contracara stresul oxidativ neutrofil-asociat din PC, fiind implicat și în transportul de glutatation [8]. Varietatea de tulburări pancreatice în mutațiile acestei gene diferă mult, de la pierderea completă a funcției pancreatice până la o funcție pancreatică normală.

La momentul actual sunt cunoscute mai mult de 2000 de mutații ale CFTR [5], dar majoritatea dintre ele au o frecvență <0,1% și nu sunt asociate cu FC [<http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>], iar la >85% din ele mecanismul de acțiune nu este cunoscut [1]. Aceste mutații pot fi divizate în șase clase, bazate pe consecințele funcționale ale polimorfismului asupra funcției de canal: clasele I-III sunt considerate severe, clasa IV – de variabilitate medie, clasele V-VI – ușoare. S-a dovedit că genotipurile asociate cu efecte fenotipice ușoare au o șansă mai mare de a cauza pancreatite decât genotipurile cu fenotipare moderat-severă [6].

În 2014, LaRush J. și coaut., în asociere cu Grupul Nord-american de Studiu al Pancreasului [4], au demonstrat că 9 mutații CFTR (R74Q, R75Q, R117H, R170H, L967S, L997F, D1152H, S1235R, D1270N), care dereglează mecanismele de activare WNK1-SPAK, cauzează perturbarea selectivă a canalului ce transportă bicarbonații, astfel afectând selectiv organele ce utilizează CFTR pentru secreția bicarbonaților (pancreasul, sinusurile nazale, vasul deferent), fără a provoca fibroză chistică (FC) clasică. Mutația R117H (c.350G>A) se referă la clasa IV, afectează conductibilitatea și este prezentă în 0.3% din populația caucaziană, manifestându-se printr-o largă varietate de simptome clinice, în funcție de prezența altor variații genetice, de ex. tractul Poly-T, care reprezintă un șir de baze timinice, situate în intronul 8 al genei CFTR (3 forme- 5T, 7T, 9T) și tractul TG (3 forme-TG11, TG12, TG13), combinațiile acestor gene rezultând într-o largă varietate de prezentări clinice ale FC [Moskowitz SM. et al., 2008].

Riscul de dezvoltare a PC printre purtătorii heterozigoți de mutații CFTR, indiferent de severitatea mutației, este de cca 3-4 ori mai mare comparativ cu populația normală, iar pentru heterozigoți cu mutații severe este de 100 ori mai mare. Circa 8% din populația cu mutații ușoare CFTR poartă un risc crescut pentru PC, în populația albă purtătorii sănătoși de mutații severe CFTR (cca 5%) sunt considerați a fi cu risc crescut de PC [Weiss F.U. et al., 2005]. Riscul de a face PC idiopatică crește de 3,7 ori la purtătorii de mutații ale FC și de 37 de ori în prezența unei mutații a FC plus o alelă ușoară în *trans* [Cohn J.A., 2005]. Populația de culoare albă are o frecvență mai mare (1/30) versus populația asiatică (1/90) de a fi purtători ai mutațiilor CFTR [Bobadilla J.L. et al., 2002].

S-a demonstrat că pacienții cu PC idiopatică au o probabilitate de 4-6 ori mai mare de a fi purtători de mutații CFTR, comparativ cu populația generală, iar bolnavii heterozigoți au un risc de 40 de ori mai mare pentru pancreatită [Audrezet M.P. et al., 2002; Noone P.G. et al., 2001]. Prezența mutațiilor trans-heterozigote s-a decelat la 6,5% pacienți cu PC și la 0,2% din GC, iar 48,2% din pacienții cu PC au prezentat un substrat genetic [7].

A fost demonstrat un epistasis semnificativ între mutațiile CFTR și SPINK1 [Schneider A. et al., 2011], un studiu a elucidat că mutațiile SPINK1 creează condiții pentru mutațiile CFTR heterozigote de a afecta pancreasul [Noone PG et al. 2001]. Îmbinarea de două mutații CFTR și mutația N34S a inhibitorului pancreatic de tripsină (SPINK1) crește de 900 de ori riscul pentru pancreatite [Grendell J.H., 2003]. Două studii efectuate în SUA și Franța au demonstrat că riscul de PCI crește de 40 de ori la pacienții care au 2 mutații ale genei CFTR, de 14 ori în prezența N34S PSTI/SPINK1, de 500 de ori la asocierea lor [Cohn J.A., 2005]. Un studiu efectuat de Schneider și coaut., în 2011, a dovedit că atât variantele severe, cât și cele ușoare „benigne” sau neclasificate ale mutațiilor CFTR pot fi asociate cu pancreatite, în special la pacienții cu mutații SPINK1.

Până în prezent nu sunt cunoscute toate mecanismele care stau la baza dezvoltării PC în mutațiile genei CFTR. Studiarea patologiilor asociate cu mutațiile CFTR este limitată de imposibilitatea investigării complete a secvenței genomice a genei CFTR pe loturi mari de pacienți, deoarece această genă codifică 1480 de aminoacizi. Studiile efectuate până acum au demonstrat că mutațiile CFTR singure nu sunt suficiente pentru dezvoltarea PC la majoritatea pacienților și sunt necesare studii suplimentare în elucidarea rolului CFTR în patogeneza PC.

Meterial și metode

Studiul a inclus 100 de pacienți cu PC, b/f-55/45, vârsta medie – 47.02±0.93 ani, inclusiv cu: PC cu recidive (PCR) – 41, PC pseudotumoroasă (PCPST) – 21, PC latentă (PCL) – 38 și grupul de control (GC) – 100 de persoane practic sănătoase. Diagnosticul de PC a fost stabilit prin metode clinice și paraclinice, conform PCN. Mutațiile R117 (CFTR), R122C (PRSS1), N34S (PRSS1) au fost determinate în Laboratorul de Genetică Moleculară al Institutului de Genetică al AȘM, ca specimen biologic a fost folosit sângele venos; polimorfismul genetic identificat prin metoda de analiză a lungimii fragmentelor amplificate și a fragmentelor polimorfe de restricție (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP), cu utilizarea primer-ilor respectivi.

Pentru prelucrarea statistică s-au folosit metode de analiză variațională, descriptivă, prin utilizarea tabelor de contingență și a criteriului χ^2 Pearson, riscul relativ estimat (OR) în intervalul de confidență (CI) 95% a fost apreciat prin utilizarea sistemului de modelare parametrică.

Rezultate și discuții

La pacienții cu PC (figura 1) luați în studiu, prezența mutației R117H (CFTR) s-a confirmat la 78 (78%) vs GC-la 53%, cu o diferență statistic semnificativă ($\chi^2=13.83$, $p<0,001$). Mutația genei CFTR (R117H) a fost decelată mai frecvent la bolnavii cu PCL (81,58%) vs cei cu PCPST (76,19%) și PCR (75,61%), $\chi^2=1.35$, $p>0.05$. Distribuția modificărilor genice studiate în funcție de prezența lor la heterozigoți și homozigoți a evocat prezența într-un număr mai mare a variantei homozigote a mutației R117H la pacienții cu PC vs GC, cu o diferență statistic semnificativă: la 51 (51%) bolnavi heterozigoți și 27 (27%) homozigoți vs GC – 42 (42%) heterozigoți și 11 (11%) homozigoți ($\chi^2=16,67$, $p<0,001$).

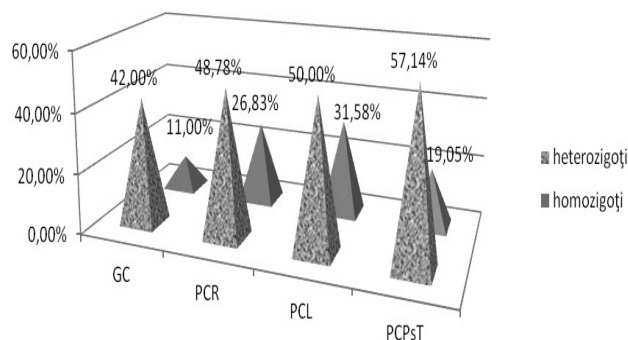


Figura 1. Frecvența mutației R117H (CFTR) la homozigoți și heterozigoți în rândul pacienților cu diferite forme clinice de PC vs GC

Mutația R117H (CFTR): forma heterozigotă a fost întâlnită mai des la pacienții cu PCPST, urmată de PCL și PCR; forma homozigotă – mai des la cei cu PCL, urmată de PCR și PCPST.

Asocierile de mutații genice influențează frecvența dezvoltării afecțiunilor pancreatice, iar studierea lor s-a soldat cu următoarele rezultate (figura 2): asocierea de mutații R117H (CFTR) + N34S (SPINK1) a fost depistată preponderent în lotul cu PCL – 8 (21,04%), urmat de PCR – 8 (19,52%) și PCPST – 2 (9,52%), în GC – 17 (17%); asociere de mutații R117H (CFTR) + R122C (PRSS1) preponderent în lotul cu PCL – 5 (13,15%), urmat de PCR – 4 (9,76%) vs GC – 8 (8%); asociere de mutații N34S (SPINK1) + R122C (PRSS1) a fost notată preponderent în lotul cu PCL – 8 (21,04%), urmat de PCR – 8 (19,52%) și PCPST – 2 (9,52%) vs GC – 17 (17%); R117H (CFTR) + R122C (PRSS1) + N34S (SPINK1) – 13 (61,88%) cu PCPST, 16 (42,08%) cu PCL și 16 (39,04%) cu PCR vs GC – 26 (26%).

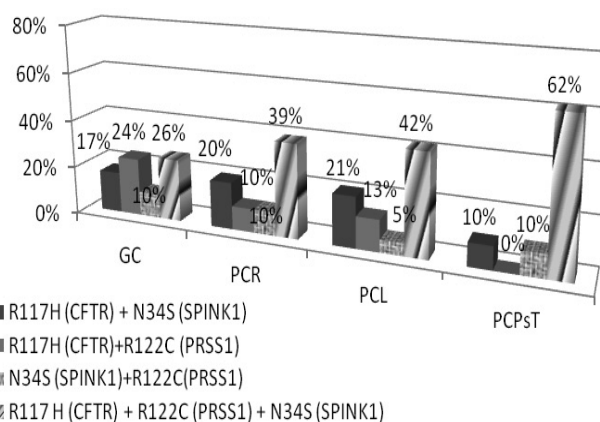


Figura 2. Asocieri de mutații genice la pacienții cu diferite forme clinice de PC vs GC

Analiza riscului relativ estimat în intervalul de confidență 95% a determinat un risc de 2,02 ori mai mare de a dezvolta PC la persoanele cu mutația R117H (CFTR) în varianta homozigotă vs heterozigotă: mutația R117H (CFTR) în heterozigoți – OR=2.59, 95% CI (1,30-5.25), $\chi^2=7.53$, $p<0.01$; homozigoți – OR=5.24, 95% CI (2.04- 13.73), $\chi^2=13.61$, $p<0.001$.

În 2014, LaRush J. și coaut., în asociere cu Grupul Nord-american de Studiu al Pancreasului [4] au detectat mutația R117H în combinație cu haplotipul IVS8-T5 în 2.3% cazuri de pacienți cu PC și 0,7% în GC, OR=3.49, $p=0.0007$, iar R117H*T7/T9 – în 9 din cele 80 de cazuri de mutații severe concurente de FC și la nici-un pacient purtător de FC din GC. Asocierea de R117H/CFTR cu N34S/SPINK1 în forma heterozigotă a fost la 5,5% pacienți cu PC, OR=8.74, $p=0.0002$. Din cei 984 bolnavi cu PC genotipați, 25 cazuri au fost confirmate ca purtători trans-heterozigoți ai mutațiilor CFTR și SPINK1 (N34S), 5 pacienți având 3 și mai multe mutații.

Raportate la datele din literatură, rezultatele obținute în studiul nostru relevă o frecvență mult mai înaltă a mutației R117H/CFTR în combinație cu alte mutații de risc la pacienții cu PC și persoanele sănătoase în populația RM, fapt ce necesită atenționarea medicilor în vederea excluderii maxime a altor factori de risc pentru PC.

Concluzii

1. Studiul genetic a relevat o frecvență statistic semnificativă mai înaltă a mutației R117H a genei CFTR la pacienții cu PC vs GC, în varianta homozigotă, preponderent la pacienții cu PCL.

2. Frecvența înaltă a mutației R117H /CFTR la pacienții cu PC și asocierea cu alte mutații (N34S/SPINK1, R122H/PRSS1) reflectă gradul înalt de risc pe care îl prezintă aceste mutații la populația etrogenă a RM.

Bibliografie

1. Ferec C., Cutting G.R. *Assessing the Disease-Liability of Mutations in CFTR*. In: Cold. Spring. Harb. Perspect. Med., 2012 Dec. 1, nr. 2(12), p. a009480.
2. Frizzell R.A, Hanrahan J.W. *Physiology of epithelial chloride and fluid secretion*. In: Cold. Spring. Harb. Perspect. Med., 2012 Jun; nr. 2(6), p. a009563.
3. LaRusch J., Whitcomb D.C. *Genetics of pancreatitis*. In: Curr. Opin. Gastroenterol., 2011, nr. 27, p. 467-74.
4. LaRusch J., Jinsei Jung J. et al. and the North American Pancreatitis Study Group. *Mechanisms of CFTR Functional Variants That Impair Regulated Bicarbonate Permeation and Increase Risk for Pancreatitis but Not for Cystic Fibrosis*. In: PLoS Genet., Jul. 2014, nr. 10(7), p. e1004376.
5. Lee M.G., Ohana E., Park H.W. et al. *Molecular mechanism of pancreatic and salivary gland fluid and HCO₃ secretion*. In: Physiol Rev., 2012 Jan, nr. 92(1), p. 39-74.
6. Ooi C.Y., Durie P.R. *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis*. In: J. Cyst. Fibros., 2012 Sep, nr. 11(5), p. 355-62.
7. Rosendahl J., Landt O., Bernadova J. et al. *CFTR, SPINK1, CTRC and PRSS1 variants in chronic pancreatitis: is the role of mutated CFTR overestimated?* In: Gut, nr. 62, 2013, p. 582-592.
8. Rubera I., C. Duranton, N. Melis et al. *Role of CFTR in oxidative stress and suicidal death of renal cells during cisplatin-induced nephrotoxicity* Open., In: Cell. Death and Disease, 2013, nr. (4), p. e817.
9. Sosnay P.R., Siklosi K.R., Van Goor F. et al. *Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene*. In: Nat. Genet., 2013, nr. 45, p. 1160-1167.

Rodica Bugai, asist. univ.,
Disciplina Medicină Internă,
Departamentul Medicină Internă,
USMF Nicolae Testemițanu,
Tel.: 069762166,
E-mail: rodica.bugai@usmf.md

IMPORTANȚA SCREENINGULUI PENTRU CANCERUL COLONIC. CAZ CLINIC

Viorica NĂSTASE, Radu NĂSTASE,
IMSP Spitalul Clinic Municipal Sfânta Treime

Summary**Importance of colon cancer screening**

Applying a screening program and choosing a healthy lifestyle is the best current preventive methods to reduce the risk of developing RCC.

Keywords: screening program, preventive methods, RCC

Резюме**Значимость скрининга рака толстой кишки**

Применение программы скрининга и выбора здорового образа жизни является лучшим в настоящее время методом профилактики для снижения риска развития рака толстой кишки.

Ключевые слова: программа скрининга, профилактика, рак толстой кишки

Introducere

În Republica Moldova, conform datelor statistice pentru anul 2013, pe primul loc printre tumorile maligne s-a plasat cancerul colorectal (CCR) cu 12,3%, urmat de cancerul glandei mamare cu 11,8%, apoi cancerul pulmonar cu 10,5%. 25-31% din bolnavi cu cancer colorectal sunt depistați în stadiile tardive, din cauza lipsei vigilenței oncologice, a examinării și investigării incomplete și adresării întârziate a bolnavilor la medic [7].

Un rol important în diagnosticul, tratamentul, reabilitarea adecvată îl are depistarea la timp a CCR. În 2013, acest indice a constituit 28,1% cu cancer al colonului și 41,4% cu cancer al rectului. Doar 10% din populația țării se adresează la medic în starea incipientă de CCR. În 60% cazuri se înlătură tumoarea împreună cu o parte din intestinul gros, iar în 30% cazuri sunt deja MT. Este important istoricul familial: rude de gradul I cu CCR, polipi colonici sau rectali [2].

Caz clinic

Bolnava J., în vârstă de 74 de ani, a fost trimisă de către medicul de familie în secția terapie a Spitalului Sfânta Treime cu diagnosticul de anemie ferodeficitară de etiologie neidentificată. Acuzele bolnavei la internare: disconfort în regiunea superioară a abdomenului, scaun instabil, pierdere în greutate în ultimele 6 luni, slăbiciune generală.

Istoricul bolii. Starea generală s-a înrăutățit cu 4 luni în urmă, când s-a depistat anemia. A folosit preparate cu fier, dar fără efect pozitiv. A mai fost internată de urgentă cu suspjecție de hemoragie gastrointestinală și consultată de către proctolog, care a exclus hemoragia.

Boli concomitente. Din istoricul vieții: suferă de DZ timp de 5 ani, primește metfogama 1000 mg de 2 ori/zi. A suportat lobectomia glandei tiroide în 2007, suferă de hipotiroidie, administrează L-tiroxin 100 mg/zi; HTA gr. II.

Anamneza eredocolaterală. Tata a decedat de cancer colorectal la vârsta de 67 ani, mama a decedat de cancer colorectal la vârsta de 64 de ani.