

Multiplekša ligācijas atkarīgo provju amplifikācijas metodes lietojums Latvijas ALKD reģistra pacientu ģenētisko faktoru analizē

Linda Piekuse¹, Luīze Bidiņa², Oskars Kalējs^{3,4}

¹ Rīgas Stradiņa universitāte, Molekulārās ģenētikas
zinātniskā laboratorija, Latvija

² Rīgas Stradiņa universitāte, Doktorantūras nodaļa, Latvija

³ Rīgas Stradiņa universitāte, Iekšējīgo slimību katedra, Latvija

⁴ Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Latvija

Ievads. Aritmogēna labā kambara displāzija (ALKD) ir reta kardiomiopātija, kas saistīta ar paaugstinātu pēkšņas kardiālas nāves (PKN) risku. Aritmogēna labā kambara displāzijas patoģenēzes pamatā ir mutācijas desmosomu kodējošajos gēnos. Molekulāri ģenētiskie izmeklējumi dod iespēju apstiprināt pacientiem izvirzīto diagnozi, tomēr ALKD izraisošu ģenētisko variāciju izdodas identificēt tikai 30–50% pacientu. Ja ar DNS sekvencēšanas metodi neizdodas noteikt patoģēnu ģenētisko variāciju, var tikt lietota multiplekša ligācijas atkarīgo provju amplifikācijas (MLPA, angļu val. – *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) metode, ar kuras palīdzību var noteikt plašas delēcijas vai duplikācijas. Latvijā šāda analīzes metode ALKD slimniekiem līdz šim nav izmantota.

Darba mērķis, materiāls un metodes. Pētījuma mērķis ir, lietojot MLPA metodi, noteikt, vai Latvijas ALKD reģistra pacientiem sastopamas plašas gēnu kodējošo daļu delēcijas vai duplikācijas. Pētījumā iesaistīti 24 pacienti, kuriem ir klīniski apstiprināta ALKD diagnoze vai robeždiagnoze. DNS tika izdalītas, izmantojot standarta fenola hloroforma metodi. MLPA analīze tika veikta ar *MRC-Holland MLPA* reaģentu komplektu P168-C2 (pārbaudot plašas delēcijas / duplikācijas gēnos *PKP2*, *DSP*, *JUP*, *DSG2*, *TGFβ3* un *RYR2*). Rezultāti tika analizēti un apstrādāti, izmantojot *Coffalyser* datu apstrādes programmu.

Rezultāti. Veicot MLPA analīzi 24 ALKD reģistra pacientiem, diviem pacientiem tika atklātas 7. eksona delēcija *PKP2* gēnā. Vairākiem pacientiem iespējamo delēciju / duplikāciju pārbaudei būtu jāveic atkārtoti testi, jo, veicot datu analīzi, pacientiem minēto eksonu skaits attiecībā pret references paraugiem neatbilda attiecībai 0,7–1,3, bet to pārsniedza, nesasniedzot attiecību 0,5 vai 1,5. Papildu analīzes būtu jāveic *PKP2* gēna 13. eksonam sešiem pacientiem un 2. eksonam diviem pacientiem un promotera rajona analīze astoņiem pacientiem, kā arī *DSC2* gēna 17. eksona un *DSG2* 15. eksona pārbaude – katru vienam pacientam.

Secinājumi. Pirmo reizi Latvijas ALKD reģistra pacientiem tika izmantota MLPA analīzes metode, atklājot delēcijas ar ALKD patoģenēzi saistītajos gēnos, kas pierāda: lai atklātu ALKD izraisošos ģenētiskos iemeslus, ir nepieciešams lietot vairākas izmeklēšanas metodes – sekvencēšanu un MLPA.