

А. А. Домарад

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ АНЕМИИ ФАНКОНИ

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. А. Н. Глебов

Кафедра патологической физиологии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A. A. Domarad

MODERN NOTIONS OF THE PATHOGENESIS OF FANCONI ANEMIA

Tutor: PhD, Associate Professor A. N. Glebov

Department of pathological physiology,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Данная работа посвящена обобщению современных представлений о патогенезе анемии Фанкони. В ходе исследования было подтверждено, что анемия Фанкони является генетически наследуемым заболеванием и относится к группе болезней репарации ДНК.

Ключевые слова: апластическая анемия, репарация, поперечные сшивки, врожденные пороки.

Resume. This work is devoted to the generalization of current ideas about the pathogenesis of Fanconi anemia. The study confirmed that Fanconi's anemia is a genetically inherited disease and belongs to the group of DNA repair diseases.

Keywords: aplastic anemia, reparation, cross-links, birth defects.

Актуальность. Анемия Фанкони – редкое врожденное аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся нестабильностью генома, врожденными пороками развития, прогрессирующей панцитопенией, приводящей к онкологическим заболеваниям, в особенности к лейкемии [1, 2, 3]. Существует 19 генов, мутации в которых приводят к развитию анемии Фанкони [7, 9]. Обычно АФ манифестируется в детском или раннем подростковом возрасте, однако зафиксированы случаи манифестации в возрасте более 30 лет [4, 6]. «Золотым стандартом» скрининга анемии Фанкони является тест с повреждающими алкилирующими агентами, такими как диэпоксидбутан и митомицин С, однако он не имеет 100% специфичности ввиду существования явления мозаицизма, поэтому разрабатываются новые методы диагностики, в том числе и пренатальные [5, 8, 10].

Цель: обобщение современных представлений о патогенезе анемии Фанкони.

Задачи:

1. Выявление генной патологии в патогенезе анемии Фанкони.
2. Установление связи между мутациями в генах анемии Фанкони и раком молочной железы.

Материалы и методы. Проведен анализ отечественной и зарубежной литературы. В исследование было включено 7 детей, возраст постановки диагноза которых от 1 года 1 месяца до 11 лет, находившихся на лечении в УЗ «Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии» с 2008 по 2017 год.

Для изучения возраста манифестации заболевания, врожденных пороков развития и генетических критериев болезни (вариабельности генов анемии Фанкони)

были использованы истории болезни пациентов.

Результаты и их обсуждение. Анемия Фанкони (АФ) – это редкое аутосомно-рецессивное заболевание (её частота составляет 1:360 000 родившихся детей с соотношением 1:1.1 в пользу мальчиков), характеризующееся нестабильностью геномного аппарата, врожденными аномалиями развития, мультисистемным поражением красного костного мозга, сопровождающееся нарушениями гемопоэза и склонностью к онкологическим заболеваниям (чаще всего острая лейкемия). Генетическая гетерогенность способствует изменчивости в представлении и возраста при диагнозе. У некоторых пораженных людей есть врожденные аномалии, которые приводят к постановке диагноза с самого рождения, тогда как другие диагностируются в раннем детстве или, реже, во взрослой жизни.

Впервые анемия Фанкони была описана в 1927 году швейцарским педиатром Гвидо Фанкони, который сообщил о трех братьях с панцитопенией и физическими пороками. Термин «анемия Фанкони» был предложен Негели в 1931 г. для обозначения комбинации семейной апластической анемии и врожденных физических пороков.

К настоящему времени в мире зафиксировано более 2000 случаев анемии Фанкони и их количество быстро увеличивается в результате внедрения методов лабораторной диагностики, позволяющей установить диагноз у сиблингов больного АФ еще до манифестации апластической анемии, а также у больных с характерными пороками развития, но без явных гематологических аномалий.

Клиническая характеристика анемии Фанкони. Средний возраст гематологической манифестации у исследованных пациентов составил $6,028 \pm 3,9$ лет, что соответствует общемировому стандарту ~ 7 лет. Однако в отношении АФ нельзя ограничиваться возрастными рамками: вариации возраста пациентов, в котором устанавливался диагноз, необычайно широки – от рождения до 48 и 32 лет для лиц женского и мужского пола соответственно.

Классический облик больного АФ - низкий рост, микроцефалия, микрофтальмия, смуглый оттенок кожи, участки гипер- и гипопигментации кожи (пятна типа «кофе с молоком»), гипоплазия/отсутствие лучевой кости и костей кисти, врожденные пороки развития и аномалии со стороны мочеполовой, пищеварительной и др. систем. Диагноз АФ должен быть обязательно подтвержден тестами на гиперчувствительность хромосом, тем более что аномалии могут быть общими и для АФ и других наследственных апластических анемий, например, врожденного дискератоза.

Молекулярно-генетическая характеристика анемии Фанкони. В данное время известно 19 генов, связанных с развитием анемии Фанкони. Один из них – FANCB – находится на X-хромосоме, остальные – на аутосомах. Группы комплементации – это генетические подгруппы АФ, связанные с наличием мутаций в одном и том же гене. Определение групп комплементации основано на возможности клеточных линий, полученных от пациентов с мутациями в различных генах АФ, функционально дополнять друг друга. При наличии мутаций в одном и том же гене этого не происходит. По этому принципу выделены основные группы – группы комплементации: FA-A, -B, -C, -D1, -D2, -E, -F, -G, -I, -J, -L, -M, -N, -O.

Спектр мутаций при АФ в основном представлен точковыми мутациями ($\approx 30\%$),

микроделециями и крупными делециями ($\approx 40\%$), описаны единичные случаи малых дупликаций [7].

Табл. 1. Основные часто встречаемые гены, мутации в которых приводят к развитию АФ

Ген	Локализация	Частота встречаемости мутации, %	Исследование	Функция	Особенности
Группа 1: АФ-коровый комплекс					
FANCA	16q24.3	60-70	MLPA, секвенирование	моноубиквинирование ID-complex	Вариабельность выраженности клинических проявлений. Большое разнообразие мутаций, около 40% составляют крупные делеции
FANCB	X-хромосома	~2	MLPA, секвенирование	моноубиквинирование ID-complex	X-связанное наследование
FANCC	9q22.3	~14	MLPA, секвенирование, ПЦР	моноубиквинирование ID-complex	90% случаев представлено двумя мутациями: c.711+4A>T (ассоциирована с тяжелыми клиническими проявлениями у евреев ашкенази) и delG332 (сравнительно легкое течение);
FANCG	9p13	~10	Секвенирование	моноубиквинирование ID-complex	Раннее развитие миелодисплазии/лейкоза
Группа 2: АФ-ID комплекс и FAN1					
FANCI		~1	Секвенирование	передача сигнала эффекторным протеинам	Реципрокная активация с FANCD2 и связывание с хроматином
Группа 3: белки последующих стадий					

Ген	Локализация	Частота встречаемости мутации, %	Исследование	Функция	Особенности
FANCD1	3q12.3	~3	Секвенирование	Эф-факторные протеины, гомологичная рекомбинация	Раннее и частое развитие опухолей/лейкоза. Гетерозиготное носительство ассоциировано с развитием рака молочной железы, яичников.

Патогенез анемии Фанкони заключается в нарушении способности клетки исправлять определенный тип повреждений ДНК – поперечные межхроматидные сшивки (DNA interstrand cross-link), которые препятствуют работе репликационной вилки [4,6]. Поперечные межхроматидные сшивки образуются как под воздействием продуктов естественного метаболизма клетки (эндогенных альдегидов и активных форм кислорода), так и под воздействием химических веществ, в частности химиотерапевтических препаратов, таких как цисплатин, митомицин С, диэпоксидбутан.

Протеины, функция которых нарушается при АФ, задействованы во всех этапах репарации межхроматидной поперечной сшивки. Этот сложный многоступенчатый процесс получил название «FA-pathway», или «сигнальный путь репарации ДНК» [8,9]. При АФ клетка неспособна адекватно исправлять повреждения ДНК, накопление поломок в которой приводит к недостаточности кроветворения, аномалиям развития и предрасположенности к развитию опухолей.

Связь между АФ и развитием рака молочной железы. В редких случаях АФ и АФ-подобных синдромов выявляют биаллельные мутации в генах, известных как гены предрасположенности к развитию рака молочной железы (РМЖ) – FANCD1/BRCA2, FANCI/BRIP1, FANCN/PALB2, FANCO/RAD51C и FANCS/BRCA1. В случае их гетерозиготного носительства выявляется повышенная предрасположенность к возникновению злокачественных новообразований чаще всего РМЖ, рак поджелудочной железы, рак простаты, рак кожи, рак пищевода, тогда как гомозиготное состояние вызывает АФ. Белок FANCD1/BRCA2 – регулятор рекомбиназы, BRCA1 и FANCD1/BRCA2 – белки супрессирующие образование опухолей, мутации которых способствуют развитию РМЖ [10]. Мутации в BRCA2 ассоциированы с 50%-ным риском развития РМЖ в возрасте до 50 лет.

Лабораторная диагностика. Зачастую АФ манифестирует с гематологических проявлений: панцитопения различной степени выраженности: с преобладанием в начале развития тромбоцитопении и умеренной анемии с постепенно развивающейся гранулоцитопенией; гипорегенераторная макроцитарная (макроциты размером более 100 мкм³) анемия. Миелограмма и гистологическая картина костного мозга типичны для аплазии кроветворения. Обычно описывают признаки дисмиелопоэза, и практи-

чески всегда снижено содержание мегакариоцитов [4,5].

«Золотым стандартом» скрининга для выявления АФ является тест с алкилирующими агентами: диэпоксидом (ДЭБ), митомицином С [7]. Еще в самом начале изучения АФ было выявлено, что фибробласты и лимфоциты больных АФ склонны к повышенной ломкости хромосом. Позже была показана повышенная чувствительность клеток больного АФ к действию алкилирующих агентов, вызывающих поперечные сшивки между нуклеотидами, что препятствует образованию нормальной репликативной вилки для запуска процессов репарации ДНК.

Это свойство клеток лежит в основе ДЭБ-теста, в котором подсчитывается количество хромосомных разрывов в метафазных пластинках. В норме у здорового человека это число не превышает 10%, у больных с АФ как правило от 20% и более [7,8]. При ДЭБ-тесте оно увеличивается примерно вдвое. Однако стоит учитывать, что тест не имеет 100% специфичности, т.к. положительный результат дают тесты у пациентов с синдромом Нингейма, синдромом Робертса и т.д [6]. Также имеет место быть явление мозаицизма, т.е. существования в организме двух популяций клеток: с нормальным кариотипом и кариотипом АФ, что может приводить к ложноотрицательным результатам теста [7, 10]. В исследуемой группе пациентов среднее количество хромосомных поломок составило 48%, после проведения ДЭБ-теста – 84,2%. Однако эта тенденция не всегда сохраняется: у двух наблюдаемых пациентов количество поломок не превышало 5%, что свидетельствует о неспецифичности теста.

Существуют также другие методы выявления АФ, такие как MLPA (мультиплексная амплификация лигазносвязанных проб) [5], предназначенная для определения делеций и амплификаций определенных последовательностей гена длиной до нескольких десятков нуклеотидов, секвенирование по Сенгеру и цитогенетическое исследование клеток красного костного мозга, при кариотипировании которых могут обнаружиться клональные хромосомные перестройки. Для анемии Фанкони характерны перестройки: add1q, add3q, моносомия 7.

Выводы:

1 Анемия Фанкони является генетически обусловленным заболеванием, в основе патогенеза которого лежат мутации в генах белков, ответственных за репарацию поврежденных участков ДНК, в том числе за репарацию поперечных межхроматидных сшивок.

2 В редких случаях АФ и АФ-подобных синдромов выявляют биаллельные мутации в генах, известных как гены предрасположенности к развитию РМЖ, – FANCD1/BRCA2, FANCI/BRIP1, FANCN/PALB2 и FANCS/BRCA1. В случае их гетерозиготного носительства выявленная повышенная предрасположенность к возникновению злокачественных новообразований чаще всего: РМЖ, рак поджелудочной железы, рак простаты, рак кожи, рак пищевода.

Литература

1. Висмонт, Ф. И. Патологическая физиология : учебник / Ф. И. Висмонт [и др.]; под ред. проф. Ф. И. Висмонта. – 2-е изд., стер. – Минск : Вышэйшая школа, 2019. – 640 С. : ил.

2. Висмонт, Ф. И. Общая патофизиология: учеб. пособие / Ф. И. Висмонт, Е.В. Леонова, А. В. Чантурия. – Минск : Вышэйшая школа., 2011. – 364 с.
3. Леонова, Е. В. Патофизиология системы крови : учеб. пособие / Е. В. Леонова, А. В. Чантурия, Ф. И. Висмонт. 2-е изд., испр. и доп. – Минск : Вышэйшая школа., 2013. – 144 с., [2] л. цв. вкл: ил.
4. Панферова, А. В. Генетическая диагностика анемии Фанкони. Обзор литературы / А. В. Панферова, Н. М. Тимофеева, Ю. В. Ольшанская // Онкогематология – 2016. – № 11 – С. 76-83.
5. Рыбас, А. В. Апластическая анемия / А. В. Рыбас // Вестник молодого ученого. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 45-49.
6. Шарапова, С. О. Анемия Фанкони у детей: клиническая характеристика и спектр вариаций в гене FANCA / С. О. Шарапова, А. С. Романцова, А.В. Тарасова и др. // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 5. – С. 93-95.
7. Auerbach, A. D. Fanconi Anemia and its Diagnosis / A. D. Auerbach // Mutat Res. – 2009. –Vol. 668, № 1-2. – P. 4-10.
8. Killick, S. B. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia / S. B. Killick, N. Bown, J. Cavenagh et al. // Br J Haematol. – 2016. – Vol. 172, № 2. – P. 187-207.
9. Kitao, H. Fanconi anemia: a disorder defective in the DNA damage response / H. Kitao, M. Takata // Int. J. Hematol. – 2011. – Vol. 93, №4. – P. 417-424.
10. Kutler, D. I. A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR) / D. I. Kutler et al. // Blood. – 2003. – Vol. 101. – P. 1249-1256.