

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ АНЕМИИ ФАНКОНИ

Домарад А. А., Шепелевич Е. И.

*Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра биологии,  
г. Минск*

**Ключевые слова:** репарация ДНК, анемия, врожденные пороки.

**Резюме:** в научно-исследовательской работе представлен обзор литературы, касающийся клинической характеристики, молекулярно-генетического аспекта и лабораторной диагностики анемии Фанкони; представлены собственные исследования, касающиеся клинических проявлений АФ.

**Resume:** the research work provides a review of the literature on the clinical characteristics, molecular and genetic aspects and laboratory diagnosis of Fanconi anemia; presented their own research on clinical manifestation.

**Актуальность.** Анемия Фанкони – редкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Болезнь характеризуется нестабильностью генома, вариабельной пенетрантностью, генетической гетерогенностью, высоким уровнем развития врожденных пороков, нарушением гемопоэза и высоким риском развития острого лейкоза. Существенной клинической особенностью является тяжелая прогрессирующая панцитопения, а также склонность к онкотрансформации. К настоящему времени описано более 2 тысяч случаев АФ, описан ряд генов, мутации в которых могут приводить к АФ или схожим состояниям. Сложность диагностики и дальнейшего лечения заболевания состоит в том, что в данное время выявлено 19 генов, связанных с развитием АФ, и их спектр очень вариабелен.

**Цель:** исследование анемии Фанкони как болезни репарации ДНК, клинических проявлений анемии Фанкони.

**Задачи:**

1. Установить возраст манифестации анемии Фанкони в РБ;
2. Проанализировать наличие врожденных аномалий развития и их варианты у больных в АФ в РБ.

**Материал и методы.** В исследование было включено 7 детей, которые проходили лечение на базе РНПЦ «Детской онкологии, гематологии и иммунологии» в период с 2008-2016 гг. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Statistica v10.0. Обработка данных проведена методом описательной статистики.

**Результаты и их обсуждение.** Как известно, целостность ДНК может быть нарушена вследствие врожденных или приобретенных патологий. Исправлением этих ошибок занимается система репарации ДНК клетки. Однако в механизмах репарации ДНК могут происходить сбои, что соответственно приводит к повреждению, изменению или вовсе потере той информации, которую кодирует ДНК. Выделен ряд болезней, которые связаны с нарушениями в системе репарации ДНК. Они получили название «болезни репарации». К этим заболеваниям

относится анемия Фанкони. Анемия Фанкони - 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 [1].

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.

Средний возраст установления анемии Фанкони для девочек – 9 лет, для мальчиков – 7,9 лет. Однако в отношении АФ нельзя ограничиваться возрастными рамками: вариации возраста пациентов, котором устанавливался диагноз, необычайно широки – от рождения до 48 лет и от рождения до 32 лет для лиц женского и мужского пола соответственно.

Классический облик больного АФ - низкий рост, микроцефалия, микрофтальмия, смуглый оттенок кожи («постоянный загар»), участки гипер- и гипопигментации кожи и слизистых оболочек и уродливые I пальцы рук. При анемии Фанкони различные органы и системы поражаются врожденными пороками и аномалиями развития в неравной степени. Около 6% больных вообще не имеют никаких аномалий.

В данное время известно 19 генов, связанных с развитием анемии Фанкони. Один из них – FANCB – находится на X-хромосоме, остальные – на аутосомах. Каждый из этих генов отвечает за синтез определенного протеина, так или иначе участвующего в процессе репарации ДНК. Генетические подгруппы АФ, связанные с наличием мутаций в одном и том же гене, принято называть группами комплементации. Определение групп комплементации основано на возможности клеточных линий, полученных от пациентов с мутациями в различных генах АФ, функционально дополнять друг друга. По этому принципу выделены основные группы – группы комплементации: FA-A, -B, -C, -D1, -D2, -E, -F, -G, -I, -J, -L, -M, -N, -O [2].

**Табл.1** - Гены, мутации в которых приводят к АФ

Ген	Локализация	Частота встречаемости мутации, %	Исследование	Функция	Особенности
FANCA	16q24.3	60-70	MLPA, секвенирование	Core complex, моноубиквитинирование ID-complex	Вариабельность выраженности клинических проявлений. Большое разнообразие мутаций, около 40% составляют крупные делеции
FANCB	X-хромосома	~2	MLPA, секвенирование	Core complex, моноубиквитинирование ID-complex	X-связанное наследование
FANCC	9q22.3	~14	MLPA, секвенирование, ПЦР	Core complex, моноубиквитинирование ID-complex	90% случаев представлено двумя мутациями: c.711+4A>T (тяжелые клинические проявления у евреев ашкенази) и delG332 (50 % случаев АФ у жителей Голландии)
FANCD1	3q12.3	~3	Секвенирование	Эффекторные протеины, гомологичная рекомбинация	Раннее и частое развитие опухолей/лейкоза. Гетерозиготное носительство ассоциировано с развитием рака молочной железы и яичников
FANCG	9p13	~10	Секвенирование	Core complex, моноубиквитинирование ID-complex	Раннее развитие миелодисплазии/лейкоза, обусловленное поражением красного костного мозга

Патогенез анемии Фанкони заключается в нарушении структуры ДНК является результатом воздействия как внешних, так и внутренних факторов. При АФ нарушается способность клетки исправлять определенный тип повреждений ДНК – поперечные межхроматидные шивки (DNA interstrand cross-link), из-за которых нарушается процесс эксцизионной репарации ДНК [3]. Протеины, функция которых нарушается при АФ, задействованы во всех этапах репарации межхроматидной поперечной шивки. Этот сложный многоступенчатый процесс получил название «FA-pathway», или «сигнальный путь репарации ДНК». При АФ клетка неспособна адекватно исправлять повреждения ДНК, накопление поломок в которой приводит к гипоплазии красного костного мозга, недостаточности кроветворения, аномалиям развития и предрасположенности к развитию опухолей.

Развитие костномозговой недостаточности ККМ в первую очередь связывают с повышенным апоптозом гемопоэтических клеток, однако истинные патогенетические механизмы костномозговой недостаточности при АФ на данный момент изучены мало из-за сложности получения адекватной биологической модели развития заболевания.

«Золотым стандартом» скрининга для выявления АФ является тест с диэпоксиданом (ДЭБ), а также его вариант с митомицином С. Еще в самом начале изучения АФ было выявлено, что фибробласты и лимфоциты больных с 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 репликационной 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%. 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 [1].

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. Показано, что к мозаицизму приводит дополнительная новая мутация или спонтанная реверсия врожденной мутации, приводящая к восстановлению пути репарации ДНК. Такие ревертированные клетки могут частично компенсировать костномозговую недостаточность[2]. Существуют также другие методы выявления АФ, такие как MLPA (мультиплексная амплификация лигазносвязанных проб), 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 на стадии гипоплазии кроветворения. Для анемии Фанкони характерны перестройки: add1q, add3q, моносомия 7 [4].

Одной из поставленных задач научной работы было установление среднего возраста манифестации АФ в Республике Беларусь, а так же граждан других стран (Россия, Казахстан, Украина), которые проходили лечение РНПЦ «Детской онкологии, гематологии и иммунологии». В ходе научно-исследовательской работы было установлено, что средний возраст манифестации у исследованных пациентов составляет  $6,028 \pm 3,9$  лет, что соответствует общемировому стандарту  $\sim 7$  лет. Минимальный возраст манифестации - 1 год, максимальный - 11 лет. Диагноз «анемия Фанкони» может быть поставлен еще в раннем детстве, из-за наличия у ребенка врожденных пороков развития, которые вкупе с клинической картиной могут помочь поставить диагноз на ранних этапах прогрессирования заболевания. Как говорилось ранее, при АФ врожденные пороки не являются обязательным условием. Исходя из собственного исследования, врожденные пороки развития

наблюдались у 5 (61%) пациентов из 7, у 2 (39%) – не наблюдалось. Спектр врожденных пороков развития при АФ довольно обширен. Врожденные пороки развития могут наблюдаться со стороны кожи (гипер- и гипопигментация; эхимозы), глаз (микрофтальмия, опущение века), опорно-двигательного аппарата (гипоплазия костей), мочеполовой системы (гипо-/гиперплазия почек, удвоение мочеточников, удвоение лоханок), кровеносной системы (пролапс митрального клапана, гипертрофия желудочков).

**Табл. 2** – Врожденные пороки развития при АФ

Врожденные пороки развития		n	%
Кожа	Гипер- и гипопигментация, пятна «кофе с молоком»	4	33%
Опорно-двигательный аппарат	Гипоплазия трубчатых костей, в частности лучевой, аномалия развития большого пальца кисти	3	25%
Со стороны внутренних органов	Гипер-/гипоплазия почки; неправильная форма/положение желчного пузыря	3	25%
Глаза	Микрофтальмия, сужение глазной щели	2	17%
Лицевой отдел черепа	Асимметрия лицевого отдела черепа, в том числе асимметрия глаз	2	17%

**Выводы:** В ходе научно-исследовательской работы было подтверждено, что анемия Фанкони является болезнью репарации ДНК, т.к. при АФ нарушается репарация межхроматидных поперечных сшивок ДНК, а систематизируя собственные исследования установлено:

1. Средний возраст манифестации анемии Фанкони в Беларуси составляет  $6,028 \pm 3,9$  лет;
2. Частота проявления врожденных пороков развития составляет (61%). Наиболее часто врожденные пороки развития проявляются со стороны кожи (33%), опорно-двигательного аппарата (23%) и органов зрения (23%).

**Литература:**

1. Педиатрия: национальное руководство: в 2 т. Т.1. – 1024 с. – (Серия «Национальные руководства») – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 400 с.
2. Панферова, А. В. Генетическая диагностика анемии Фанкони. Обзор литературы / Панферова А.В., Тимофеева, Н. М., Ольшанская, Ю.В. // Онкогематология. – 2010. – Т.11. – с. 76-83.
3. T. Taniguchi. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: recent progress/ T. Taniguchi, A. D. D'Andrea // Blood. – 2006. – Vol.107(1) – 4223-4231.
4. Гончарова Р. И. / Геномная нестабильность и нарушение репарации ДНК как факторы наследственной и соматической патологии человека / Р.И.Гончарова и др.; под общей редакцией Р.И.Гончаровой; НАН Беларуси, Ин-т генетики и цитологии, Белорусское общество генетиков и селекционеров. - М: Беларуская навука - 2015. – С.282.