

FANCA, будут в дальнейшем исследованы на мутации в гене FANCC и FANCG для определения субтипов анемии Фанкони в Беларуси.

Работа выполнена в рамках проекта ОНТП «Здоровье женщины и ребенка — благополучие семьи и государства», задание «Разработать и внедрить методологию комбинированной генетической и иммунологической диагностики врожденных X-сцепленных дефектов иммунной системы и анемии Фанкони», сроки выполнения 2010–2012 гг.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Auerbach, A. D. Fanconi Anemia and its Diagnosis / A. D. Auerbach // *Mutat Res.* — 2009. — Vol. 668(1–2).
2. 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.
3. A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR) / D. I. Kutler [et al.] // *Blood.* — 2003. — Vol. 101. — P. 1249–1256.
4. Spectrum of sequence variations in the FANCA gene: an International Fanconi Anemia Registry (IFAR) study / O. Levran [et al.] // *Hum Mut.* — 2005. — Vol. 25(2). — P. 142–149.
5. Comparative evaluation of diepoxybutane sensitivity and cell cycle blockage in the diagnosis of Fanconi anemia / H. Seyeschab [et al.] // *Blood.* — 1995. — Vol. 85. — P. 2233–2237.
6. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: recent progress / T. Taniguchi, A. D. D'Andrea // *Blood.* — 2006. — Vol. 107(1).

УДК 616.155.2-097

ГЕНОТИП-ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ВИСКОТТ-ОЛДРИЧ

С. О. Шарапова, А. А. Мигас, Т. А. Углова, Л. Н. Бышнёва, М. В. Белевцев

Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, г. Минск

В ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии» (РНПЦДОГ) точный диагноз синдром Вискотт-Олдрич был выставлен 6 мальчиком в возрасте от 4 мес. до 15 лет. У всех пациентов выявлены мутации гена WAS. В спектре обнаруженных мутаций преобладали миссенс мутации во 2 и 3-м экзоне, обнаруженные у 4-х пациентов. У этих пациентов отмечалось полное отсутствие WASP в лимфоцитах и достаточно тяжелое течение заболевания. Лишь у одного ребенка с мутацией во 2-м экзоне гена WAS наблюдалось мягкое течение заболевания. У 2 пациентов мутации локализованы в 10 экзоне, это нонсенс мутации. У одного пациента с такой мутацией экспрессия WASP была частично сохранена.

Ключевые слова: синдром Вискотт-Олдрич, мутация, генотип.

GENOTYPE-PHENOTYPIC DESCRIPTION OF PATIENTS WITH WISKOTT-ALDRICH SYNDROME

S. O. Sharapova, A. A. Migas, T. A. Uglova, L. N. Byshniova, M. V. Belevtsev

Republican Research Centre for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk

Six boys aged from 4 months to 15 years old were diagnosed with Wiskott-Aldrich syndrome in the Republican Research Centre for Pediatric Oncology and Hematology. All the patients revealed WAS gene mutations. The missense-mutations in exons 2 and 3, detected in 4 patients prevailed in the spectrum of the mutations. WASP was fully absent in lymphocytes and rather a severe course of the disease was observed in all the patients. Only one child with WAS gene mutation in second exon had a mild course of the disease. The mutations were localized in tenth exon in two patients, which is a nonsense of the mutation. The WASP expression was partially preserved in one patient with such mutation.

Key words: Wiskott-Aldrich syndrome, mutation, genotype.

Синдром Вискотта-Олдрича (Wiskott-Aldrich syndrome, WAS) (OMIM 301000) — редкий X-сцепленный рецессивный первичный иммунодефицит, вызванный мутацией гена WAS с триадой диагностических клинических элементов: иммунодефицит, экзема, тромбоцитопения с тромбоцитами малого размера. Проявлением иммунодефицита у больных являются тяжелые инфекции, аутоиммунные заболевания (васкулит, аутоиммунная гемолитическая анемия, гломерулонефрит и др.) и склонность к развитию злокачественных новообразований (лейко-

зов, лимфом, опухолей мозга) [1]. Тяжесть проявлений заболевания у больных с WAS варьирует от рецидивирующей тромбоцитопении с минимальными геморрагическими проявлениями до тяжелого заболевания с выраженным инфекционным и аутоиммунным синдромами [2]. У многих пациентов повышен уровень иммуноглобулина Ig E и IgA, снижен уровень IgM. Частота встречаемости WAS: 1–10 случаев на 1 млн новорожденных мальчиков [3].

На сегодняшний день установлено свыше 300 мутаций в WAS гене, включающих весь

возможный спектр: мутации со сдвигом рамки считывания, миссенс- или нонсенс-мутации, мутации в сплайсайтах, делеции, инсерции и др., которые приводят к абберантной транскрипции. Мутации выявляются на всех 12 экзонах WAS гена, однако их распределение является неравномерным, большинство из них встречается в первых четырех экзонах N-терминального конца. В настоящее время установлено, что миссенс-мутации, происходящие в первых трех экзонах, приводят к умеренному фенотипу заболевания и часто характеризуются сниженным уровнем экспрессии WASP. Более сложные мутации в этих экзонах, включая инсерции, делеции, сплайсинг мутации, характеризуются более тяжелым фенотипом с отсутствием, нестабильным или чрезвычайно низким уровнем экспрессии WASP. Доказано, что мутации, которые происходят на C-конце WASP гена, характеризуются отсутствием экспрессии белка [4].

Цель исследования

Выявление клинико-лабораторных особенностей фенотипа синдрома Вискотт-Олдрича у детей в Республике Беларусь в зависимости от типа и локализации мутации в гене WAS.

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 6 мальчиков с диагнозом синдром Вискотт-Олдрича, находящихся на лечении в ГУ «РНПЦДОГ». Основными диагностическими критериями являлись: тромбоцитопения, малый размер тромбоцитов, нарушение экспрессии WASP, выявление мутаций в гене WAS. Дополнительные диагностические критерии: наличие экземы, текущая бактериальная или вирусная инфекция или условно-патогенная инфекция в раннем возрасте, семейный анамнез с указанием на наличие тромбоцитопении у лиц мужского пола по материнской линии, аутоиммунных заболеваний или лимфом в раннем возрасте. Определение размера тромбоцитов проводили методом морфометрии с использованием иммерсионной световой микроскопии. Определение экспрессии белка WAS в лимфоцитах периферической крови осуществлялось методом проточной цитометрии на аппарате «FACScan» фирмы «Becton Dickinson», США с использованием реагентов этой же фирмы). Проведение мутационного анализа гена WAS методом прямого секвенирования на приборе «GeneticAnalyzer ABI 3130» (Hitachi, Япония).

Клинический фенотип каждого пациента оценивали по балльной системе: 1 — наличие только тромбоцитопении с тромбоцитами маленького размера; 2 — наличие тромбоцитопе-

нии с тромбоцитами малого размера в сочетании с умеренно выраженной преходящей экземой; 3 — наличие тромбоцитопении с тромбоцитами малого размера в сочетании со стойкой экземой и инфекциями; 4 — наличие тромбоцитопении с тромбоцитами малого размера в сочетании с тяжелой экземой и тяжелыми инфекциями; изменение балла на 5 при развитии аутоиммунного или злокачественного заболевания.

Результаты исследования и их обсуждение

Первые проявления заболевания возникали в возрасте до 6 мес. (Me 2,75 мес.) в виде геморрагического синдрома и тромбоцитопении с уровнем тромбоцитов от единичных до $28 \times 10^9/\text{л}$ (Me $12 \times 10^9/\text{л}$). Экзема разной степени интенсивности выявлена у 4-х пациентов. У 2-х детей в анамнезе по материнской линии у лиц мужского пола — тромбоцитопения. Двум проведена спленэктомия, осложнившаяся инвагинацией и сепсисом. Оба пациента живы и не имеют проявлений тромбоцитопении после спленэктомии. У 1-го из них развилось аутоиммунное заболевание. Частые простудные заболевания, рецидивирующие отиты или гаймориты отмечались у 3-х детей. Стандартное иммунологическое исследование периферической крови не выявило нарушений в субпулционном составе лимфоцитов и уровне иммуноглобулинов ни у одного пациента.

У всех пациентов в гемограмме преобладали тромбоциты размером до 2 мкм (малые формы): от 63 до 83,5 % (Me 63,5 %), при норме до 26 % (рисунок 1).

Клинический фенотип только у одного пациента оценен в 1 балл, у 4-х — в 2 балла, у 1 — 5 баллов (таблица 1).

У 3-х пациентов определена экспрессия WASP в лимфоцитах, у 2-х из них экспрессия полностью отсутствовала.

У всех пациентов выявлены мутации гена WAS. В спектре обнаруженных мутаций преобладали миссенс мутации во 2 и 3-м экзоне, обнаруженные у 4-х пациентов (2 экзон: 612 G > A, 86 Arg > His, 612 G > A 86 Arg-> His, 5583 G > C 77 Asp->His, 3 экзон: 1792 T > C 105 Leu > Pro). У этих пациентов отмечалось полное отсутствие WASP в лимфоцитах и достаточно тяжелое течение заболевания. Лишь у одного ребенка с мутацией во 2-м экзоне гена WAS наблюдалось мягкое течение заболевания (1 балл). У 2 пациентов мутации локализованы в 10 экзоне, это нонсенс мутации (10 экзон: 4897G > T; 322Gly->stop, 4894 G > T 321 Arg-> stop). У 1-го пациента с такой мутацией экспрессия WASP была частично сохранена (таблица 1).

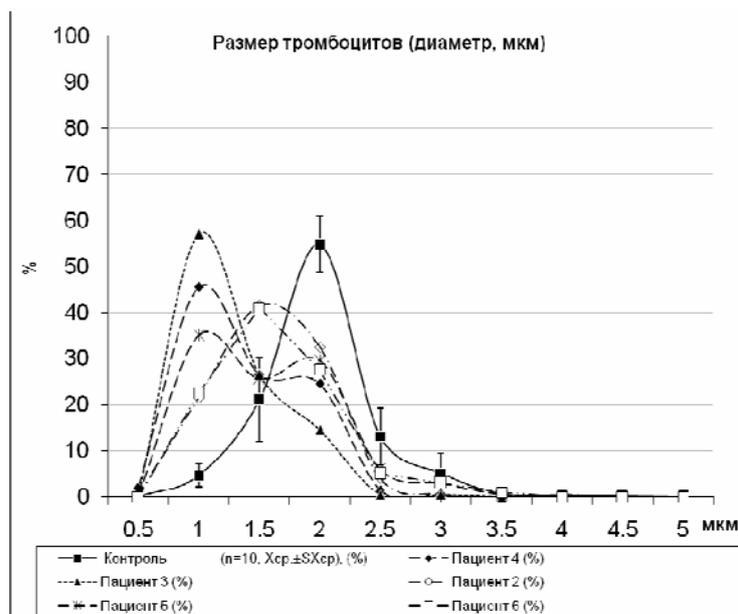


Рисунок 1 — Размер тромбоцитов у пациентов с WAS

Таблица 1 — Генотип/фенотипическая характеристика пациентов с WAS

Пациент	Клиническая оценка (балл)	Возраст на момент исследования	Мутация в гене WAS, экзон, тип мутации	Экспрессия белка WASP в лимфоцитах
1	5	18 лет	Экзон 2: 612 G > A, 86 Arg > His	полностью отсутствует
2	2	10 лет	Экзон 3: 1792 T > C, 105 Leu > Pro	полностью отсутствует
3	2	3 года 7 мес.	Экзон 2: 583 G > C, 77 Asp > His	н. д.
4	2	1 год	Экзон 10: 4897 G > T, 322Gly > stop	частично сохранена
5	1	5 мес.	Экзон 2: 612 G > A, 86 Arg > His	н. д.
6	2	3 мес.	Экзон 10: 4894 G > T, 321Arg > stop	н. д.

Заключение

Таким образом, миссенс мутации в первых трех экзонах гена WAS детей Республики Беларусь сопровождаются достаточно тяжелым течением заболевания и нарушением экспрессии WAS протеина (полным отсутствием). Экспрессия в 10-м экзоне сопровождается более мягким фенотипом и частичной экспрессией WAS протеина.

Работа выполнена в рамках проекта ОНТИ «Здоровье женщины и ребенка — благополучие семьи и государства», задание «Разработать и внедрить методологию комбинированной генетической и иммунологической диагностики врожден-

ных X-сцепленных дефектов иммунной системы и анемии Фанкони», сроки выполнения 2010–2012.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Thrasher, A. J. New insights into the biology of Wiskott-Aldrich syndrome / A. J. Thrasher // Hematology. — 2009.
2. Notarangelo, L. D. Missense mutations of the WASP gene cause intermittent X-linked thrombocytopenia / L. D. Notarangelo // Blood. — 2002. — Vol. 99(6). — P. 2268–2289.
3. WASP (Wiskott–Aldrich syndrome protein) gene mutations and phenotype / K. Imai [et al.] // Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology. — 2003. — Vol. (3). — P. 427–436.
4. Ochs, H. D. Mutations of the Wiskott–Aldrich Syndrome Protein affect protein expression and dictate the clinical phenotypes / H. D. Ochs // Immunol Res. — 2009. — Vol. (44). — P. 84–88.

УДК 616-005.1-08

НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

В. М. Шмелева, Н. Б. Салтыкова, Л. П. Папаян

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии, г. Москва

Обследовано 339 пациентов с сердечно-сосудистой патологией и 260 лиц контрольной группы. Измерение уровня гомоцистеина в плазме проводилось методом жидкостной хроматографии под высоким давлением с флуоресцентной детекцией. Проведено сравнение показателей плазменного и тромбоцитарного гемостаза у больных с нормальным и повышенным уровнем гомоцистеина плазмы. Согласно полученным данным, повышение уровня гомоцистеина играет значимую роль в формировании гиперкоагуляционного синдрома. Нали-