Грациликутные возбудители ИВО у больных ОМЛ в основном были устойчивы к антибиотическим препаратам. Следует отметить, что некоторые штаммы *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella sp.* проявили чувствительность к азлоциллину, доксициклину, эритромицину и рифампицину, цинобаку, цефепиму, рокситромицину.

Результаты исследования чувствительности дрожжеподобных грибов к антимикотикам показали, что наиболее активно влияли клотримазол, нистатин и амфотерицин В. В то же время, к итраконазолу и флуконазолу чувствительными были не более 6,7 % выделенных штаммов.

Заключение

Больным острым лейкозом, как правило, эмпирически назначают антибактериальные и антимикотические препараты. Однако такая терапия часто оказывается не эффективной, требует периодической смены препаратов различных классификационных групп, что приводит к нецелесообразному лечению, повышению его стоимости, оказывает дополнительное токсическое действие на ослабленный организм, провоцирует появление резистентных штаммов микроорганизмов, что в целом усугубляет состояние больных с ИВО и удлиняет сроки лечения. Кроме того, наличие ИВО приводит к необходимости отмены протокольной цитостатической терапии, что фактически способствует накоплению массы опухолевого клона и, как следствие, прогрессированию основного заболевания.

По результатам наших исследований было установлено, что проведение адекватной этиотропной терапии, основанной на результатах микробиологических исследований с учетом индивидуальной чувствительности изолированных возбудителей, способствует купированию инфекционного процесса, улучшению общего состояния больных и позволяет сократить сроки их лечения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Хоулта [и др.]; пер. с англ. Г. А. Заварзина. — М.: Мир, 1997. — 800 с.

2. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»: Наказ МОЗ України від 05. 04. 2007 № 167. — Київ., 2007. — 113 с.

3. *Третяк, Н. М.* Гематологія: навчальний посібник / Н. М. Третяк. — Київ: Зовнішня торгівля, 2005. — 240 с.

4. *Kurtzman, C. P.* The yeasts. A taxonomic study / C. P. Kurtzman, J. W. Fell. — Elsevier, Amsterdam, 1998. — 1055 p.

УДК 616.155.194:575

АНЕМИЯ ФАНКОНИ У ДЕТЕЙ: КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И СПЕКТР ВАРИАЦИЙ В ГЕНЕ FANCA

С. О. Шарапова, А. С. Романцова, А. В. Тарасова, Т. А. Углова, А. С. Пилипчик, М. В. Белевцев, Н. Н. Савва

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

В период с 1992 по 2010 гг. в РБ верифицированный диагноз анемии Фанкони (АФ) был выставлен 19 детям в возрасте от 1 года 3 мес. до 16 лет, из них 11 (57,9 %) мальчиков и 8 (42,1 %) девочек. Наиболее частыми аномалиями развития у детей с АФ явились: патологическая пигментация кожи, аномалии костей и глаз. Для проведения мутационного анализа гена FANCA была получена ДНК из мононуклеаров периферической крови и костного мозга 9 пациентов. Фрагментный анализ гена FANCA выявил нарушения в ДНК 2-х пациентов (делеция 1–6 экзона и делеция 6 экзона. Мутационный скрининг 43 экзонов гена FANCA определил мутации еще у троих пациентов (экзон 19, экзон 27, экзон 28). Из 5 обнаруженных мутаций 2 были новые. Мутационный скрининг в этой группе выявил также многочисленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), у 5 пациентов в сочетании с мутациями в гене FANCA, у 3-х пациентов были обнаружены только SNP, и у одного не было обнаружено ни мутаций, ни SNP.

Ключевые слова: дети, анемия Фанкони, мутация, полиморфизм.

FANCONI'S ANEMIA IN CHILDREN: CLINICAL DESCRIPTION AND VARIATION SPECTRUM IN FANCA GENE

S. O. Sharapova, A. S. Romantsova, A. V. Tarasova, T. A. Uglova, A. S. Pilipchik, M. V. Belevtsev, N. N. Savva

Republican Research Center for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk

Nineteen children, of them 11 boys (57,9%) and 8 girls (42,1%) aged from 1,3 to 16 were diagnosed with verified Fanconi`s anemia in the Republic of Belarus in the period from 1992 to 2010. Pathologic skin pigmentation, bone and eye anomalies were the most widespread anomalies in the children`s development. To perform the mutagenic analysis of FANCA gene, DNA from the peripheric blood and marrow mononuclears of 9 patients was extracted. The fragmentary analysis of FANCA gene revealed DNA abnormalities in 2 patients (1–6 exone deletion and 6 exone deletion). The mutation screening of 43 exones of FANCA gene detected mutation in three more patients (exone 19, exone 27,

exone 28). Two mutations of 5 detected ones were new. The mutation screening in this group in the combination with FANCA gene mutations in five patients revealed also numerous one-nucleotide polymorphism (SNP), 3 patients revealed only SNP, and one patient had neither mutations nor SNP.

Key words: children, Fanconi`s anemia, mutation, multimorphism.

Введение

АФ — редкое врожденное заболевание, характеризующееся нестабильностью геномного аппарата, врожденными аномалиями развития, нарушением гемопоэза и высоким риском развития острого лейкоза и различных солидных опухолей. Врожденные аномалии включают морфометрические нарушения лица и головы, скелетные аномалии, а именно пороки лучевых костей и большого пальца, нарушение роста и развития, патологическую пигментацию кожи, снижение слуха, патологию почек, сердца, полового тракта, глаз. Врожденные аномалии у АФ-пациентов могут быть представлены в диапазоне от полного отсутствия (у 25 % пациентов) до мультиорганного поражения организма. Кардинальная клиническая особенность — это тяжелая прогрессирующая панцитопения, а также склонность к онкотрансформации. [1, 3]. Диагноз АФ основан на повышенной чувствительности хромосом пациента к ДНК-повреждающим агентам — диэпоксибутану (ДЭБ) и митомицину С (ММС) [5]. Генетической основой АФ являются мутации в 15 генах FANC, которые формируют 15 комплементарных групп (A, B, C, D1 [BRCA2], D2, E, F, G, I, J [BRIP1], L, M, N [PALB2], O [RAD51C], P [SLX4]). Продукты этих генов формируют общую сеть убиквитин-фосфорилирования, т. н. «сигнальный путь АФ» и, кооперируясь с другими белками, вовлекаются в репарацию ДНК, контроль клеточного цикла, в восстановление двухцепочечных разрывов и поддержание стабильности генома [2, 6]. Аномальные гены при АФ наследуются аутосомно-рецессивно и только FANCB наследуется Х-сцепленно. Около 85 % всех пациентов АФ имеют дефект в 1 из 3-х генов FANCA, FANCC, FANCG [1]. Мутации в гене для комплементарной группы FA-A (FANCA, MIM# 607139) встречаются в 65 % всех описанных случаев АФ [4]. Спектр их очень вариабельный. По последним данным Международного регистра АФ (Rockfeller University, New York, USA) 757 пациентов имели комплементарную группу FA-A с выявлением 451 уникальной мутации.

Цель исследования

Изучение клинических особенностей и характера изменений в гене FANCA в группе пациентов с АФ в Беларуси.

Материалы и методы исследования

В исследование включено 19 детей, возраст постановки диагноза от 1 года 3 мес. до 16 лет, находившихся на лечении в ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и гематологии» (РНПЦДОГ) и детском гематологическом отделении УЗ «1-я Городская клиническая больница» (ГКБ) г. Минска с 1992–2010 гг. Анализ клинических данных проводился в соответствии с регистрационной картой Международного центра по изучению АФ (IFAR, New-York, USA).

Для проведения мутационного анализа гена FANCA были подобраны праймеры к 43 экзонам и к интронным последовательностям, фланкирующим границы экзонов, с учетом известных однонуклеотидных полиморфизмов и мутаций гена FANCA. Для этого использовали программу Primer3Plus и Primer-BLAST. Генетический анализ гена FANCA включал: 1) выделение ДНК из мононуклеаров периферической крови и образцов костного мозга пациентов с верифицированным диагнозом АФ; 2) фрагментный анализ гена FANCA с использованием коммерческого набора SALSA MLPA Kit P031/P032-2 FANCA (MRC-Holland BV) по инструкции производителя на секвенаторе ABI 3130 (USA); 3) SSCP для 43 экзонов гена FANCA; 4) секвенирование экзонов с нарушенной подвижностью фрагментов по SSCP.

Результаты исследования и их обсуждение

Из 19 пациентов АФ диагностирована у 11 (57,9 %) мальчиков и 8 (42,1 %) девочек. Средний возраст постановки диагноза составлял 8,2 ± 3,4 года. На сегодняшний день живы 8 человек: 4 после трансплантации гемопоэтической стволовой клетки (ТГСК), 4 — без ТГСК. 1 потерян из наблюдения. Умерли 10 пациентов. Из 19 пациентов 15 родились и проживали на территории Беларуси, четверо, диагностированные в РБ, были резидентами других стран (Украина — 2, Казахстан — 1, Азербайджан — 1).

У больных АФ отмечался широкий спектр врожденных пороков (таблица 1).

Средний возраст гематологической манифестации АФ составил 5,5 ± 2,8 лет. У 15 из 19 пациентов (78,9 %) первым гематологическим проявлением была тромбоцитопения, у 4 (21%) — снижение уровня гемоглобина. В дальнейшем болезнь прогрессировала в панцитопению. У 7 из 19 (36,8 %) больных отмечался повышенный уровень фетального гемоглобина от 5 до 60 %. У 4 (21 %) больных произошла трансформация заболевания в миелодиспластический синдром (МДС) и острый лейкоз (2 — МДС и 1 ОМЛ, 1 бифенотипический лейкоз — маркеры миело + Т).

Таблица 1 — Врожденные пороки развития у больных анемией Фанкони

Пороки пациентов в Беларуси		n	%
Кожа	Гипо-/гиперпигментация, пятна «кофе с молоком», врожденный ихтиоз	13	68,4
Глаза	Микрофтальмия, сужение глазной щели, гипо-/гипертелоризм, миндалевидный разрез глаз	11	57,9
Большой палец и лучевая кость	Гипоплазия, отсутствие, аномалия развития большого пальца, отсутствие пястных, трапециевидных, ладьевидных костей	5	26,3
Другие кости	Синдактилия пальцев ноги, готическое небо, ассиметрия черепа, вывих обеих бедренных костей, брахидактилия, высокое стояние левой лопатки, полидактилия	11	57,9
Почки и мочевыводящие пути	Эктопическое расположение, удвоение почки, нефроптоз, гипо-/диспластическая или отсутствующая почка	7	36,8
Половая система	Мальчики: неопущение яичек, крипторхизм Девочки: гипоплазия яичников, аменорея	4 1	36,4 12,5
Сердечно-сосудистая система	Пролапс митрального клапана, ОАП, ДМЖП, гипертрофия желудочков	7	36,8
Центральная нервная система	Микроцефалия, олигофрения, умственная отсталость, гиперрефлексия	6	31,6

В генетический анализ гена FANCA были включены образцы ДНК 9 пациентов, диагностированных и получавших лечение в ГУ «РНПЦДОГ» (6 мальчиков, 1 девочка из Беларуси, 1 мальчик — Украина, 1 девочка — Казахстан). Первым этапом генетического анализа ДНК пациентов был фрагментный анализ, направленный на детекцию крупных делеций генетического материала четных и не четных экзонов. Этот метод был выбран первым этапом в генетической диагностике с учетом превалирования больших внутригенных делеций [6]. У 2 пациентов из 9 (22 %) в образцах ДНК выявлен положительный результат: у 1-го пациента — делеция 1–6-го экзона, у другого — 6-го экзона. Следующим этапом являлось секвенирование фрагментов с нарушенной подвижностью по SSCP. Мутации были обнаружены еще у 3-х пациентов. Из 5 обнаруженных мутаций 2 были новые (таблица 2). Все пациенты с мутациями в гене FANCA были мальчиками.

У всех 5 пациентов с обнаруженной мутацией в гене FANCA были детектированы однонуклеотидные полиморфизмы (SNP — single nucleotide polimorphism), у 3-х пациентов были обнаружены только SNP, у одного не было обнаружено ни мутаций, ни SNP. Среди 10 описанных наиболее часто встречающихся SNP в гене FANCA [Levran et al. 2005] в нашей группе пациентов встречались 5 (T > C, G > A, G > A, C > T, T > C), причем как в гомозиготном, так и гетерозиготном состоянии.

Таблица — 2 Результаты мутационного анализа больных АФ

Пациент, номер	ДЭБ-тест	Выявленная мутация	Изменение аминокислотной последовательности	Экзон / интрон	Количество аллелей выявления	Ссылка
1	Спонт 14, ДЭБ 36	C > G	p. Ser858Arg	экзон 27	1	Wijker et al, 1999
2	Спонт 41(20), ДЭБ 28	C	Frame shift (мутация со сдвигом рамки считывания)	экзон 19	1	Новая
3	Спонт 14, ДЭБ 86		—	экзон 1–6	2	Levran et al, 2005
4	Спонт 16, ДЭБ 40		—	экзон 6	2	Fanconi anemia database
5	Спонт 16, ДЭБ 32	G > T	p. Arg880Leu	экзон 28	1	новая

Выводы

Наиболее частыми аномалиями развития у детей с АФ в РБ являются патологическая пигментация кожи, аномалии костей и глаз.

Мутационный спектр гена FANCA очень вариабельный. Большие делеции в этом гене не характерны для нашей выборки пациентов. ДНК пациентов с невыявленными мутациями в

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 Х-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 missence-mutations in exones 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 exone had a mild course of the disease. The mutations were localized in tenth exone 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 Х-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 (лейкозов, 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