

# Сравнительный анализ синдрома Швахмана-Даймонда с другими врожденными синдромами костномозговой недостаточности и корреляция генотип-фенотип

Хашми С.К., Аллен С, Клаассен Р, Фернандес С.В., Янофски Р, Шерек Э, Шампань Ж, Сильва М., Липтон Дж.Х., Броссар Ж, Самсон И, Эбиш С., Стил М., Али К., Дауэр Н., Атал У., Жардин Л., Хенд Дж.П., Бейен Ж., Дрор И. Сравнительный анализ синдрома Швахмана-Даймонда с другими врожденными синдромами костномозговой недостаточности и корреляция генотип-фенотип Клини Жене, 2010 ♥ John Wiley & Sons A/S, 2010

Все, что нам известно о фенотипах врожденных синдромов недостаточности костного мозга (IBMFS, inherited bone marrow failure syndromes), основано на изучении клинических случаев или на серии случаев, в каждом из которых рассматривается только один такой синдром. Однако, поскольку указанные фенотипы в большой степени совпадают, назрела необходимость провести сравнительный анализ различных синдромов IBMFS.

Синдром Швахмана-Даймонда (SDS) — заболевание, изучение клинического фенотипа которого активно ведется досих пор. В данном анализе мы воспользовались данными 125 пациентов, взятыми из канадского проспективного комплексного популяционного исследования врожденных костномозговых синдромов (CIMFS). Было проанализировано 34 клинических случая, полученные результаты были сопоставлены с данными пациентов из исследования CIMFS, страдающих от четырех основных разновидностей IBMFS: Анемия Даймонда-Блэкфана, анемия Фанкони (FA), тяжелый агранулоцитоз Костмана / острая конгенитальная нейтропения и врожденный дискератоз (DC). Диагностика SDS, FA и DC часто производилась со значительной задержкой относительно проявления первых симптомов синдрома, что свидетельствует об острой необходимости повышения качества инструментов для быстрой постановки диагноза.

Было выявлено множество фенотипических различий между синдромами SDS и прочими синдромами IBMFS, ряд различий являются новыми. Частота биаллельных мутаций *синдрома Швахмана-Бодиана-Даймонда* (SBDS) была ниже, чем в предыдущих исследованиях (81%). Важно отметить, что в сравнении с пациентами, у которых были выявлены биаллельные мутации, у пациентов, страдающих от дикого типа синдрома SBDS, гематологические нарушения проявлялись более остро, а панкреатические — слабее. Таким образом, комплексное исследование синдромов IBMFS может предоставить полезные данные для сравнительного анализа различных патологий. У пациентов, страдающих синдромом SDS без симптомов синдрома SBDS, могут острее проявляться гематологические отклонения и мягче — панкреатические.

Синдром Швахмана-Даймонда — это аутосомная рецессивная мультисистемная патология. Несмотря на то, что основные составляющие синдрома уже были описаны, остается неясным спектр клинического фенотипа заболевания. Наше знание о клинических особенностях и фоновом генотипе основывается на немасштабных клинических исследованиях серии случаев или на непопуляционных исследованиях. Исходя из данных исследований, патология характеризуется изменчивым фенотипом, который включает в первую очередь патологии костного мозга, экзокринной части поджелудочной железы и костей (1-4), но может подразумевать патологии и других органов (1, 5-10). Гематологические проявления объединяют цитопению, миелодиспластический синдром (MDS) и лейкоз, в частности острый миелоцитарный лейкоз (AML) (1, 4, 9).

СШД — один из наиболее часто встречающихся врожденных синдромов недостаточности костного мозга и вторая по распространенности причина недостаточности поджелудочной железы (4, 5).

Большинство пациентов с диагнозом СШД наследуют сложные гетерозиготы, вызывающие мутации SBDS на q11.21 (11).

Основная сложность при описании спектра клинических проявлений синдромов IBMFS состоит в том, что признаки различных патологий значительно пересекаются. Так, например, диагноз СШД не может быть поставлен пациентам с недостаточностью костного мозга, но без нарушений всасывания (12). С другой стороны, пациенты с недостаточностью костного мозга и хронической диареей могут не иметь SDS, но страдать, например, от врожденного дискератоза. В данном исследовании мы применили новаторскую методику для изучения синдромов IBMFS: мы проанализировали несколько синдромов, используя данные из единого комплексного регистра популяционного масштаба, чтобы выявить уникальные особенности синдрома СШД и валидировать другие признаки, которые выдвинуты в более ранних исследованиях и обзорах. Несмещенное включение пациентов позволило нам изучить различия между пациентами с диагнозом СШД, у которых как присутствуют, так и отсутствуют мутации в гене SBSD.

## Методика

### Регистр

Канадское комплексное исследование врожденных костномозговых синдромов (CIMFS) является многоцентровым исследованием и одобрено советами по этике всех участвующих учреждений. Данные центры осуществляют лечение более 95% детей с синдромами IBMFS в Канаде. Более 90% пациентов в исследовании находятся в ведении центров, которые включили в исследование более 80% пациентов своих учреждений. К исследованию допущены пациенты, соответствующие нашим диагностическим критериям синдромов IBMFS (12).

Таблица 1 Критерии диагностики синдрома Швахмана-Даймонда  
Необходимо соответствие не менее чем двум следующим критериям.

Не менее двух следующих критериев:

Хроническая цитопения, зафиксированная не менее двух раз, с промежутком не менее 3 месяцев.

Сниженное количество клеток-предшественников костного мозга (колониобразующие единицы гранулоцитов и моноцитов, ранние эритроидные предшественники, колониобразующие единицы моноцитов и мегакариоцитов).

Стойкое повышение уровня гемоглобина F (установлено не менее двух раз с промежутком не менее 3 месяцев).

Стойкий макроцитоз красных кровяных телец (установленный не менее двух раз с промежутком не менее 3 месяцев), не вызванный гемолизом или дефицитом питательных веществ.<sup>1</sup>

По меньшей мере один из следующих критериев:

Наличие панкреатического липоматоза (по результатам УЗИ, компьютерной томографии, МРТ или патологического исследования поджелудочной железы при вскрытии)

Сниженный уровень по меньшей мере двух панкреатических ферментов для данного возраста (фекальная эластаза, трипсиноген в сыворотке либо ферменты двенадцатиперстной кишки после стимуляционной пробы).

Положительная генетическая диагностика (SBDS и другие синдромы, как только диагностика появится)

В первую очередь - близкий родственник, страдающий синдромом Швахмана-Даймонда.

Диагностика каждого синдрома IBMFS производится в соответствии с описанными ранее принципами диагностики (13). Критерии диагностики синдрома СШД приведены в таблице 1.

Данные о пациенте собирались в начале исследования и при последующем ежегодном контроле (демографические данные, диагноз, симптомы, семейный анамнез, пороки развития, лабораторные исследования, генетические исследования, лечение и результаты).

Генетическая диагностика проводилась по усмотрению лечащего врача. Генетический анализ гена SBDS проводился в клинической лаборатории педиатрической больницы Торонто либо в исследовательской лаборатории (Y.D., Toronto). Во всех случаях для амплификации были использованы наборы праймеров для каждого из пяти генных экзонов SBDS и наборы праймеров для секвенирования с целью анализа продуктов полимеразной цепной реакции.

### Определения

<sup>1</sup> Необходимо исключить гемоглобинопатии с неэффективным эритропоэзом и высокий уровень гемоглобина F путем клинических или лабораторных тестов.

Наличие SDS дополнительно подтверждается характерным метафизарным дизостозом.

Аномалии, связанные с цитопенией в периферической крови и средним объемом эритроцитов (MCV), были классифицированы в соответствии с опубликованными данными, разделенными по возрасту (14). Тяжелой апластической анемии соответствовала насыщенность клетками костного мозга, составляющая менее 25% от нормы для данного возраста и при наличии одного из двух последующих показателей: содержание нейтрофилов  $<0.5 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцитов  $<20 \times 10^9/\text{л}$ , абсолютных ретикулоцитов -  $\leq 40 \times 10^9/\text{л}$  у пациентов с анемией (15). Поскольку процентное отношение насыщенности клетками не всегда было возможно точно определить или данные отсутствовали в части случаев, мы определили тяжелую костномозговую недостаточность как двухфазную цитопению, которая продолжается дольше трех месяцев при гипоцеллюлярном костном мозге.

Миелодиспластический синдром (MDS) был определен на основе критериев Всемирной организации здравоохранения синдрома MDS в педиатрии (16). Цитопатология MDS была охарактеризована в соответствии с классификацией Категория/Цитология/Цитогенетика (17). Миелоцитарный лейкоз (AML) определялся при наличии  $\geq 30\%$  лейкозных бластов в костном мозге.

#### Анализ данных

Для определения статистической значимости разницы средних значений использовался t-критерий Стьюдента. Для сравнения медиан был использован тест Манна-Уитни. Для поиска связей между переменными применялся критерий хи-квадрат. Для расчета корреляции между генотипом и фенотипом использовался коэффициент корреляции Пирсона. Статистически значимыми считались значения  $p < 0.05$ . Выживание оценивалось при помощи анализа Каплана-Мейера. Для статистического анализа использовалась программа spss 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

#### Результаты.

Мы проанализировали данные, полученные у 34 пациентов с СШД, зарегистрированных в исследовании CIMFS (Canadian Inherited Marrow Failure Study – Канадском исследовании заболеваний костного мозга) с июля 2001 г. по декабрь 2008 г. Эти данные были сопоставлены с информацией, полученной у пациентов регистра с четырьмя другими наиболее распространенными врожденными синдромами костно-мозговой недостаточности (IBMФ): у 34 пациентов с анемией Фанкони (АФ), 8 пациентов с врожденным дискератозом (ВД), 39 больных с анемией Даймонда-Блэкфана (АДБ) и 10 пациентов с тяжелой врожденной нейтропенией Костманна (К/ТВН). Дифференциальный диагноз СШД проводится в основном с этими IBMФ. Данные, полученные у 36 пациентов, были опубликованы ранее (12, 18).

#### Демографические характеристики

Десять обследованных пациентов состояли в кровном родстве (были братьями или сестрами). Соотношение мальчиков и девочек составляло 1:1,1. Статистически значимой разницы в соотношении полов, по сравнению с другими IBMФ, не было (табл. 2). Медиана возраста на момент обращения была равна 1,5 месяцам, что существенно не отличалось от других IBMФ (табл. 2). Однако медиана возраста на момент постановки диагноза SDS равнялась 17 месяцам, что было значительно позже, чем при К/ТВН и АДБ (табл. 2). Влияние более старшего ребенка на время постановки диагноза было сложно оценить в нашей серии случаев, поскольку в трех из пяти семей заболевание было либо выявлено одновременно у обоих sibсов, либо у второго ребенка диагноз был поставлен после генетического скрининга. В оставшихся двух семьях у старшего ребенка диагноз был поставлен раньше, чем у младшего (17 vs 157 месяцев и 2,5 vs 3,5 месяцев).

Пол и возраст пациентов с синдромом Швахмана–Даймонда, по сравнению с больными, страдающими другими синдромами врожденной костно-мозговой недостаточности<sup>a</sup>

	СШД (n = 34)	АФ (n = 34)	ВД (n = 8)	АДБ (n = 39)	К/ТВН (n = 10)
Пол					
Мальчики	47	50	50	56	30
Девочки	53	50	50	44	70
		$p = 1,00$	$p = 1,00$	$p = 0,486$	$p = 0,474$
Медиана возраста на момент обращения, месяцы (диапазон)	$n = 25$ 1,5 (0–168)	$n = 22$ 0,25 (0–126)	$n = 7$ 6 (0–108)	$n = 30$ 1,1 (0–132)	$n = 8$ 0 (0–12)
		$p = 0,86$	$p = 0,789$	$p = 0,307$	$p = 0,204$
Медиана возраста на момент диагностики, месяцы (диапазон)	$n = 33$ 16,7 (0–188)	$n = 31$ 40,3 (0–146)	$n = 8$ 40,9 (8–201)	$n = 37$ 5,4 (0–184)	$n = 10$ 2,4 (0–13)
		$p = 0,177$	$p = 0,073$	$p = 0,006$	$p = 0,000$
Медиана периода наблюдения в динамике, месяцы (диапазон)	162 (24–528)	134 (0–318)	71 (0–35)	157 (0–496)	12,4 (0–27)
		$p = 0,416$	$p = 0,087$	$p = 0,114$	$p = 0,326$

АДБ – анемия Даймонда–Блэкфана; ВД – врожденный дискератоз; АФ – анемия Фанкони; К/ТВН – тяжелая врожденная нейтропения Костманна; СШД – синдром Швахмана–Даймонда.

<sup>a</sup>Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым. Сравнение полового соотношения между СШД и другими ВСКМН было выполнено с помощью теста хи-квадрат; сравнение по возрасту было выполнено с помощью теста Манна–Уитни.

### Генетический анализ

Генетический анализ на наличие гена *SBDS* был выполнен у 31 больного с СШД. Сложная гетерозиготность по мутациям гена *SBDS* была обнаружена у 81% обследованных пациентов (рис. 1). Чаще всего выявлялись аллели 258+2Т>С, затем 183–184ТА>СТ и 183–184ТА>СТ+258+2Т>С. Выявлено две новые мутации: 388Г>Т и с.621+1Г>А. Наиболее частыми комбинациями мутаций были: 183–184ТА>СТ/258+2Т>С (12 пациентов) и 183–184ТА>СТ+258+2Т>С/258+2Т>С (6 пациентов).

В 4 случаях диагноз СШД был установлен после генетического тестирования. У двоих из этих больных заболевание было выявлено в ходе семейного скрининга после обнаружения мутаций гена *SBDS* у пациента-носителя, обратившегося за помощью.

У 6 из 31 пациента с СШД обнаружены нормальные последовательности во всех пяти экзонах и фланкирующих интронах гена *SBDS*; двое из них были идентичными близнецами. Эти пациенты соответствовали диагностическим критериям СШД (табл. 8), однако у них также были выполнены тесты на некоторые другие заболевания, которые оказались отрицательными (табл. 9).

### Гематологические характеристики

Только у 4 больных с СШД (12%) на момент обращения отмечалась изолированная нейтропения легкой степени, которой не было ни у одного из пациентов с АФ, ВД и АДБ. У всех остальных больных определялись типы цитопении, которые обнаруживались и при других синдромах. На момент постановки диагноза у 24% пациентов с СШД отмечалась двухлинейная, и у 24% – трехлинейная цитопения. Только у 74% больных с СШД на момент диагностики имелась нейтропения. При этом не было выявлено существенной

разницы в частоте или тяжести нейтропении между больными с СШД, АФ и ВД (табл. 3). Однако при СШД нейтропения встречалась реже, чем при К/ТВН.

На момент постановки диагноза анемия была выявлена у 58% пациентов с СШД. Анемия была преимущественно макроцитарной и сопровождалась высоким уровнем гемоглобина F (HgF). Анемия значительно реже встречалась при СШД, чем при АФ и АДБ, но регистрировалась так же часто, как и при К/ТВН. Тем не менее, более высокая встречаемость больных с высоким средним объемом эритроцитов и HgF при СШД и нормализация уровня гемоглобина после лечения пациентов с К/ТВН с помощью Г-КСФ позволяют предположить, что анемия при СШД обусловлена поражением костного мозга, в отличие от К/ТВН. Необходимо отметить, что средний объем эритроцитов и частота встречаемости пациентов с высоким средним объемом эритроцитов при СШД были ниже, чем при АФ, ВД и АДБ. Тромбоцитопения при СШД встречалась значительно реже, чем при АФ и ВД.

Сочетание изолированной нейтропении и высокого среднего объема эритроцитов после первого года жизни встречалось у 20% пациентов с СШД, и не было зарегистрировано ни у одного из больных с АФ, ВД и АДБ. Этот показатель при СШД был выше, чем при К/ТВН (9%), однако при этом не было выявлено статистически значимой разницы. Сочетание изолированной нейтропении и высокого уровня HgF после первого года жизни наблюдалось у 28% больных с СШД и не было зарегистрировано при других синдромах.

При исходном исследовании костного мозга снижение клеточности было обнаружено у 65% больных СШД (табл. 4). На момент постановки диагноза у больных с АФ отмечалась тенденция к более выраженному поражению костного мозга, со значительно более высокой встречаемостью гипоцеллюлярного костного мозга, сниженного гранулопоэза, эритропоэза и мегакариопоэза. Снижение клеточности, гранулопоэза и мегакариопоэза чаще встречались при СШД, чем при АДБ. У больных с СШД снижение клеточности, гранулопоэза и мегакариопоэза отмечалось чаще, чем у пациентов с К/ТВН. Важно отметить, что среди пациентов с СШД, у которых имелись результаты подсчета отдельных видов клеток костного мозга, ни у одного не было обнаружено остановки созревания клеток на стадии промиелоцитов – миелоцитов, тогда как у всех больных с К/ТВН, для которых имелись соответствующие данные, отмечалась остановка созревания клеток на этой стадии ( $p < 0,0001$ ). При анализе результатов исследования костного мозга наибольшее сходство у больных с СШД отмечалось с больными с ВД, по сравнению с другими заболеваниями. Только снижение мегакариопоэза при СШД встречалось реже, чем при ВД.

В возрасте 26 месяцев (медиана) у 24% пациентов развилось тяжелое поражение костного мозга (табл. 5). Этот показатель был значительно ниже, чем при ВД и АФ, но существенно выше, чем при АДБ.

Вероятность развития клональной и злокачественной миелоидной трансформации вплоть до миелодиспластического синдрома (МДС) или острого миелолейкоза (ОМЛ) статистически значимо различалась между разными ВСКМН. В возрасте 20 лет (медиана) у 18% больных с СШД развились клональная и злокачественная миелоидная трансформация, по сравнению с 41%, 13%, 10% и 0% у пациентов с АФ, ВД, К/ТВН и АДБ, соответственно (табл. 6; рис. 2).

Рис. 1.

Частота выявления мутантных аллелей SBDC среди всех пациентов с биаллельными мутациями

Allele	Аллель
Splice site	Участок сплайсинга
Nonsense	Нонсенс-мутация
Missense	Миссенс-мутация
Deletion	Делеция

Percentage of allele among all patients with mutations

Процент пациентов с данным аллелем среди всех больных с мутациями.

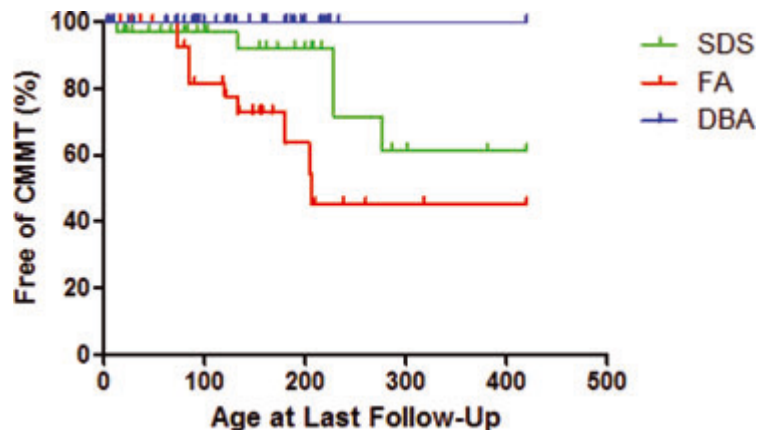


Рис. 2.

Расчетный риск развития клональных цитогенетических патологических изменений костного мозга, моелодиспластического синдрома и лейкоза у пациентов с синдромом Швахмана–Даймонда, анемией Фанкони и анемией Даймонда–Блэкфана в настоящем исследовании.

КЗМТ – клональная и злокачественная миелоидная трансформация

Age at follow-up	Возраст при последнем наблюдении в динамике
Free of CMMT (%)	Отсутствие КЗМТ
SDS	СШД
FA	АФ
DBA	АДБ

Таблица 3

Анализ крови у пациентов с синдромом Швахмана–Даймонда, по сравнению с другими врожденными синдромами костно-мозговой недостаточности, на момент постановки диагноза<sup>а</sup>

	СШД (n = 34)	АФ (n = 34)	ВД (n = 8)	АДБ (n = 39)	К/ТВН (n = 10)
Нейтропения <sup>б</sup> (%)	74	63	62,5	31	100
Легкая	21	16	25	6	0
Умеренная	15	22	37,5	17	10
Тяжелая	38	25	37,5	8	90
		<i>p</i> = 0,527	<i>p</i> = 0,680	<i>p</i> = 0,001	<i>p</i> = 0,030
	(n = 34)	(n = 32)	(n = 8)	(n = 36)	(n = 10)
Среднее абсолютное число нейтрофилов, 10 <sup>9</sup> /л (SD)	1,17 (1,03)	1,42 (1,22)	1,99 (2,62)	2,71 (2,20)	0,18 (0,22)
		<i>p</i> = 0,368	<i>p</i> = 0,158	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,005
Анемия <sup>с</sup> (%)	58	81	88	100	70
Легкая – умеренная (%)	46	31	75	32	70
Тяжелая (%)	12	50	12,5	68	0
		<i>p</i> = 0,001	<i>p</i> = 0,175	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,356
	(n = 33)	(n = 32)	(n = 8)	(n = 37)	(n = 10)
Средний уровень гемоглобина, г/л (SD)	108,8 (31,7)	85,0 (31,58)	92 (14,9)	58 (26,1)	110,8 (20,8)
		<i>p</i> = 0,004	<i>p</i> = 0,145	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,68
	(n = 33)	(n = 32)	(n = 8)	(n = 37)	(n = 10)
Средний объем эритроцитов, фл (SD)	88,4 (8,3)	99,1 (7,6)	97,9 (13,8)	95,5 (6,2)	77,8 (9,1)
		<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,015	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,002
	(n = 33)	(n = 31)	(n = 8)	(n = 27)	(n = 10)
Повышение возрастного уровня среднего объема эритроцитов после 1 года, %	60	86	86	87	11
		<i>p</i> = 0,048	<i>p</i> = 0,363	<i>p</i> = 0,078	<i>p</i> = 0,020
	(n = 20)	(n = 29)	(n = 7)	(n = 23)	(n = 9)
Средний уровень HgF (SD)	7,95 (12,0)	13,6 (12,6)	11,6 (11,1)	9,3 (7,0)	1,23 (1,23)
		<i>p</i> = 0,113	<i>p</i> = 0,532	<i>p</i> = 0,755	<i>p</i> = 0,278
	(n = 28)	(n = 22)	(n = 5)	(n = 9)	(n = 4)
Повышение возрастного уровня HgF после 1 года, %	72,2	100	100	100	0
		<i>p</i> = 0,113	<i>p</i> = 0,532	<i>p</i> = 0,755	<i>p</i> = 0,278
	(n = 18)	(n = 21)	(n = 5)	(n = 9)	(n = 3)
Тромбоцитопения <sup>д</sup> (%)	38	75	100	11	0
Легкая (%)	12	9	0	3	0
Умеренная (%)	23,5	47	25	8	0
Тяжелая (%)	3	19	75	0	0
		<i>p</i> = 0,009	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,063	<i>p</i> = 0,143
	(n = 34)	(n = 32)	(n = 8)	(n = 36)	(n = 10)
Среднее число тромбоцитов, 10 <sup>9</sup> /л (SD)	213 (143)	122 (147)	18 (16)	395 (198)	479 (170)
		<i>p</i> = 0,012	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,000
	(n = 34)	(n = 32)	(n = 8)	(n = 36)	(n = 10)
Изолированная нейтропения и высокий средний объем эритроцита после 1 года (%)	20	0	0	0	11
		<i>p</i> = 0,021	<i>p</i> = 0,545	<i>p</i> = 0,025	<i>p</i> = 0,051
	(n = 20)	(n = 30)	(n = 7)	(n = 28)	(n = 9)
Изолированная нейтропения и высокий уровень HgF после года (%)	28	0	0	0	0
		<i>p</i> = 0,015	<i>p</i> = 0,545	<i>p</i> = 0,136	<i>p</i> = 0,549
	(n = 18)	(n = 21)	(n = 5)	(n = 9)	(n = 3)
Изолированная анемия и высокий средний объем эритроцита после 1 года (%)	5	13	0	50	0
		<i>p</i> = 0,626	<i>p</i> = 1,000	<i>p</i> = 0,001	<i>p</i> = 1,000
	(n = 20)	(n = 30)	(n = 7)	(n = 28)	(n = 10)
Изолированная анемия и высокий уровень HgF после года (%)	6	19	0	100	0
		<i>p</i> = 0,349	<i>p</i> = 1,000	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 1,000
	(n = 18)	(n = 21)	(n = 5)	(n = 9)	(n = 3)

АДБ – анемия Даймонда–Блэкфана; АФ – анемия Фанкони; ВД – врожденный дискератоз; К/ТВН – тяжелая врожденная нейтропения Костманна; СШД – синдром Швахмана–Даймонда; HgF – гемоглобин F; NA – нет данных; SD – стандартное отклонение.

<sup>а</sup>Значения *p* были рассчитаны с помощью критерия Стьюдента.

<sup>б</sup>Нейтропения считалась тяжелой при абсолютном числе нейтрофилов < 0,5 × 10<sup>9</sup>/л; умеренной – при абсолютном числе нейтрофилов

от > 0,5 до < 1,0 и легкой при абсолютном числе нейтрофилов от > 1,0 до <  $1,5 \times 10^9/\text{л}$ .  
<sup>c</sup>Анемия считалась тяжелой при уровне гемоглобина < 70 г/л и легкой или умеренной при уровне гемоглобина от > 70 г/л до нижней границы нормы для данного возраста и пола.  
<sup>d</sup>Тромбоцитопения считалась тяжелой при числе тромбоцитов <  $20 \times 10^9/\text{л}$ ; умеренной при числе тромбоцитов от > 20 до <  $10 \times 10^9/\text{л}$  и легкой при числе тромбоцитов <  $150 \times 10^9/\text{л}$ .

Таблица 4

Результаты исследования костного мозга на момент постановки диагноза<sup>a</sup>

	СШД	АФ	ВД	АДБ	К/ТВН
Клеточность костного мозга (%)	65	97	75	20	20
Сниженная	23	3	25	49	30
Нормальная	8	0	0	20	20
Повышенная	4	0	0	11	20
Неопределенная		$p = 0,015$	$p = 0,88$	$p = 0,002$	$p = 0,048$
	( $n = 26$ )	( $n = 30$ )	( $n = 8$ )	( $n = 35$ )	( $n = 10$ )
Сниженный гранулопоэз (%)	46	71	38	9	60
		$p = 0,022$	$p = 0,898$	$p = 0,000$	$p = 0,271$
	( $n = 26$ )	( $n = 27$ )	( $n = 8$ )	( $n = 35$ )	( $n = 10$ )
Сниженный эритропоэз (%)	23	54	12,5	80	0
		$p = 0,001$	$p = 0,976$	$p = 0,000$	$p = 0,232$
	( $n = 25$ )	( $n = 28$ )	( $n = 8$ )	( $n = 36$ )	( $n = 10$ )
Сниженный мегакариопоэз (%)	35	86	88	0	0
		$p = 0,000$	$p = 0,011$	$p = 0,000$	$p = 0,022$
	( $n = 25$ )	( $n = 29$ )	( $n = 8$ )	( $n = 35$ )	( $n = 10$ )

АДБ – анемия Даймонда–Блэкфана; АФ – анемия Фанкони; ВД – врожденный дискератоз; К/ТВН – тяжелая врожденная нейтропения Костманна; СШД – синдром Швахмана–Даймонда.  
<sup>a</sup>Сравнение между СШД и другими ВСКМН было выполнено с помощью критерия хи-квадрат.

Таблица 5

Прогрессирование заболевания и лечение осложнений пациентов с врожденными синдромами костно-мозговой недостаточности<sup>a</sup> после включения в исследование

	СШД	АФ	ВД	АДБ	К/ТВН
Усиление цитопении (%)	61	48	25	13	29
		$p = 0,422$	$p = 0,114$	$p = 0,000$	$p = 0,207$
	( $n = 28$ )	( $n = 27$ )	( $n = 8$ )	( $n = 31$ )	( $n = 7$ )
Тяжелая недостаточность костного мозга (тяжелая двухлинейная цитопения с гипоцеллюлярностью костного мозга)	15	56	88	0	0
		$p = 0,000$	$p = 0,000$	$p = 0,015$	$p = 0,207$
	( $n = 34$ )	( $n = 32$ )	( $n = 8$ )	( $n = 37$ )	( $n = 10$ )
Медиана возраста развития тяжелой апластической анемии, годы (диапазон)	3,9 (2–5)	7,2 (0,4–16)	6,6 (0,8–18)	– –	– –
		$p = 0,182$	$p = 0,643$	$p = \text{NA}$	$p = \text{NA}$
Лечение					
Переливание эритроцитарной массы (%)	28	67	88	95	0
		$p = 0,002$	$p = 0,002$	$p = 0,000$	$p = 0,053$
	( $n = 32$ )	( $n = 30$ )	( $n = 8$ )	( $n = 38$ )	( $n = 10$ )
Переливание тромбоцитарной массы (%)	15	62	100	5	0
		$p = 0,007$	$p = 0,000$	$p = 0,028$	$p = 0,255$
	( $n = 32$ )	( $n = 30$ )	( $n = 8$ )	( $n = 38$ )	( $n = 10$ )
Г-КСФ (%)	16	28	25	2,6	100
		$p = 0,000$	$p = 0,001$	$p = 0,533$	$p = 0,33$
	( $n = 32$ )	( $n = 29$ )	( $n = 8$ )	( $n = 39$ )	( $n = 10$ )
Трансплантация кроветворных стволовых клеток (%)	9	55	63	5	0
		$p = 0,000$	$p = 0,001$	$p = 0,533$	$p = 0,33$
	( $n = 34$ )	( $n = 31$ )	( $n = 8$ )	( $n = 39$ )	( $n = 10$ )
Общий коэффициент смертности (%)	6	18	25	0	10
	7–43	7–18	2,5–11	–	7



		$p = 0,132$	$p = 0,097$	$p = 0,125$	$p = 0,650$
АДБ – анемия Даймонда–Блэкфана; АФ – анемия Фанкони; ВД – врожденный дискератоз; К/ТВН – тяжелая врожденная нейтропения Костманна; СШД – синдром Швахмана–Даймонда.					
<sup>a</sup> Сравнение медианных значений между СШД и другими ВСКМН было выполнено с помощью критерия Манна–Уитни.					

### Проявления, не связанные с системой кроветворения (негематологические)

У 28 из 33 пациентов с СШД (85%) отмечены признаки дисфункции поджелудочной железы. Из них 66% пациентов нуждались в лечении ферментами поджелудочной железы и витаминами АДЕК. Также у них отмечали различные деформации скелета (таблица 7). У одного пациента данной группы развился инсулинозависимый сахарный диабет.

Таблица 6. Клональные цитогенетические отклонения костного мозга / миелодиспластический синдром

Нарушение	Процент пациентов с клональным заболеванием/МДС	Общее количество пациентов с нарушением	p-значение <sup>a</sup>
СШД	18	34	
FA	38	34	0,059
DC	13	8	0,725
DBA	0	39	0,006
К/SCN	10	10	0,561

DBA, анемия Даймонда–Блэкфана; DC, Врожденный дискератоз; FA, анемия Фанкони; К/SCN, болезнь Костманна/тяжелая врожденная нейтропения; SDS, синдром Швахмана–Даймонда.

<sup>a</sup>p-значение рассчитывали по критерию хи-квадрата, оно представляет собой сравнение между SDS и другими синдромами.

Таблица 7. Негематологические проявления у 34 пациентов с синдромом Швахмана–Даймонда во время постановки диагноза или при последующем наблюдении.

Нарушение	Процент больных
Дисфункция поджелудочной железы	85
Низкий рост	76
Скелетные нарушения	73
Метафизарная остеодисплазия	41
Остеопороз/остеопения	32
Синдром «коротких ребер»	12
Сколиоз	9
Деформация грудной клетки	6
Экзема	63
Задержка развития	59
Нарушения в полости рта	44
Кариес	26
Гипоплазия зубов	9
Лейкоплакия	3
Нарушения со стороны печени (гепатомегалия или повышенный уровень ферментов)	45
Нарушение походки	25
Боль в поясничной области	15

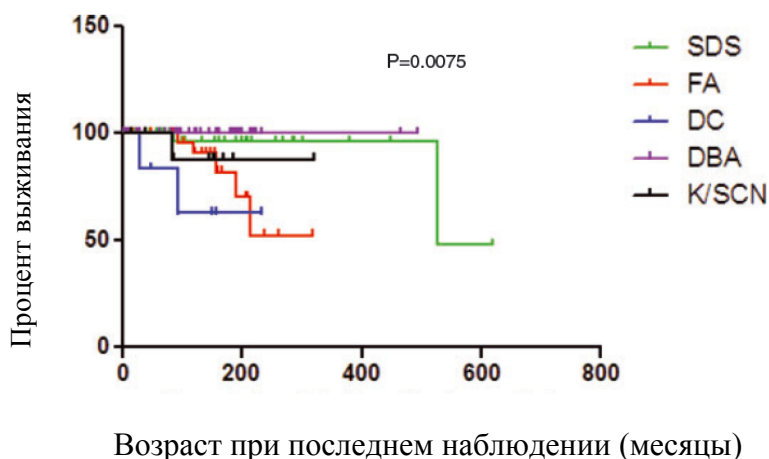


Рис.3 Анализ выживания пациентов с синдромом Швахмана-Даймонда, анемией Фанкони, врожденным дискератозом, анемией Даймонда-Блэкфана, болезнью Костманна/тяжелой врожденной нейтропенией.

### Лечение

Тридцать пять процентов пациентов с СШД нуждались в лечении цитопении, в сравнении с 85%, 100%, 100% и 95% пациентов с АФ, ВД, К/ТВН и АДБ, соответственно (таблица 5). Показания для лечения включали анемию, нейтропению, тромбоцитопению и тяжелую апластическую анемию, МДС (миелодиспластический синдром) и лейкемию. Пациенты с СШД меньше нуждались в переливании препаратов крови и трансплантации кроветворных стволовых клеток (ТКСК), чем пациенты с АФ или ВД. Хотя степень анемии при первом проявлении заболевания не отличалась у пациентов с СШД и К/ТВН, пациентам с СШД требовалось больше переливаний эритроцитов. Пациенты с СШД реже нуждались в Г-КСФ, чем пациенты с К/ТВН.

### Выживаемость

Два пациента с СШД (6%) умерли в возрасте 7 и 43 лет (рисунок 3). Первый пациент умер от полиорганной недостаточности через 10 недель после ТКСК. Второй пациент умер от грибковой инфекции после получения химиотерапии по поводу острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) и во время ожидания ТКСК.

### Генотипическая-фенотипическая корреляция у пациентов SDS

Сначала мы изучили различия между пациентами SDS с мутациями (группа А) и без мутаций (группа В) в кодирующей области *SBDS* (*ШБДС*) или фланкирующих интронных областях. Пациенты в группе В имели существенно более низкие уровни гемоглобина, чем пациенты в группе А ( $p = 0,005$ ), большую частоту высокого уровня HgF (ФРГ) после 1 года жизни ( $p = 0,02$ ) и более высокие средние уровни HgF ( $p = 0,01$ ). В противоположность этому, в группе В не выявлена тяжелая недостаточность поджелудочной железы, требующая заместительной терапии ферментами, в сравнении с 75% пациентов в группе А ( $p < 0,001$ ).

Таблица 8. Клинические характеристики пациентов, не имеющих мутаций в открытой рамке считывания *SBDS*

Пациент	Хроническа	Снижение	Повышен	Повышенн	Низки	Скелетны	Недостаточно
---------	------------	----------	---------	----------	-------	----------	--------------

ы <i>SBDS</i> +/ +	я цитопения	количества клеток- предшественников в гемопоэза в костном мозге	ный печеночн ый кровоток (HbF)	ый уровень среднего объема эритроци тов	й рост	е аномалии, характерн ые для <i>SDS</i>	сть поджелудочно й железы
UPN 19	Трехростко вая цитопения	Дизэритропоэз легкой степени, снижение количества мегакариоцитов	Да	Да	Да	Остеопени я	Липоматоз поджелудочно й железы по результатам УЗИ; патологическа я стеаторея
UPN 20	Нейтропен ия и анемия	Снижение клеточности костного мозга, легкая степень	Да	Да	Да	Метафиза рный дизостоз	Липоматоз поджелудочно й железы по результатам УЗИ
UPN 24	Трехростко вая цитопения	Снижение клеточности костного мозга с дизэритропоэзом	Да	Да	Да	Метафиза рный дизостоз, остеопени я	Липоматоз поджелудочно й железы по результатам УЗИ
UPN 176	Трехростко вая цитопения	Умеренное снижение клеточности костного мозга костный мозг, с существенным снижением мегакариопоэза и снижением эритропоэза	Да	Да	Да	Метафиза рный дизостоз	Липоматоз поджелудочно й железы по результатам УЗИ
UPN 204	Нейтропен ия	Снижение клеточности костного мозга	Да	Нет	Да	Метафиза рный дизостоз	Липоматоз поджелудочно й железы по результатам УЗИ
UPN 212	Нейтропен ия и тромбоцито пения.	Снижение клеточности костного мозга со снижением количества мегакариоцитов	Да	Да	Да	Метафиза рный дизостоз	Липоматоз поджелудочно й железы по результатам УЗИ

Таблица 9. Отрицательное исследование пациентов, не имеющих мутаций в открытой рамке считывания *SBDS* для исключения других IBMFS

Генетические тесты / скрининговые тесты на	UPN 19	UPN 20	UPN 24 (двойник UPN 19)	UPN 176	UPN 204	UPN 212
Анемия Фанкони	Ломкость хромосом: спонтанная, M- митомицинов ая (MMC) и диэпоксибута новая DEB (периферичес кая кровь)	Ломкость хромосом: спонтанная, MMC и DEB (периферич еская кровь)	Ломкость хромосом: спонтанная, MMC и DEB (периферичес кая кровь)	Ломкость хромосом: спонтанная, MMC и DEB (периферич еская кровь)	Ломкость хромосом: спонтанная, MMC и DEB (периферичес кая кровь)	Ломкость хромосом: спонтанная, MMC и DEB (периферичес кая кровь)

Врожденный дискератоз				DKC1 TERC		
Врожденная амегакариотарная тромбоцитопения				c-MPL		
Синдром Пирсона	Митохондриальная делеция		Митохондриальная делеция		Митохондриальная делеция	Митохондриальная делеция
Хрящевоволосяная гипоплазия		RMRP		RMRP	RMRP	RMRP
Анемия Даймонда-Блэкфана	eADA RPS-19	eADA	eADA RPS-19	eADA RPS-19	eADA	eADA

При медиане периода наблюдения 3 года, частота развития тяжелой апластической анемии была существенно выше в группе В (3 из 6 в сравнении с 0 из 25,  $p < 0,0001$ ). Кроме того, частота развития тяжелой недостаточности костного мозга была существенно выше в группе В (3 из 6 в сравнении с 1 из 25,  $p = 0,002$ ). 5 из 6 пациентам в группе В потребовалось лечение цитопении, в сравнении с 6 пациентами из 25 в группе А ( $p = 0,005$ ). Различия в частоте развития клональных цитогенетических отклонений костного мозга или миелодиспластического синдрома/ острого миелодиспластического синдрома (MDS/AML) были несущественными. Частота возникновения нарушений походки была значимо более выраженной в группе В (6 из 6 в сравнении с 2 из 25,  $p < 0,0001$ ).

Затем мы проанализировали различие фенотипов между пациентами, у которых отмечено одно отсечение (например с.183-184TA>CT) и одна гипоморфная мутация (например с.258+2T>C) и пациентами с двумя гипоморфными мутациями. Не отмечено отличий по возрасту появления заболевания, возрасту постановки диагноза, количеству гемоглобина, фактора роста гепатоцитов, среднему объему эритроцитов, тромбоцитов, нейтрофилов, развитию тяжелой апластической анемии и клональных цитогенетических нарушений костного мозга.

## Дискуссия

Диагноз IBMFS часто трудно поставить. В настоящем исследовании диагнозы СШД, АФ и ВД часто ставились намного позже появления первых симптомов. Эти результаты показывают необходимость увеличения индекса вероятности (подозрения) у медицинских работников в отношении IBMFS и улучшения клинических и лабораторных методов установления быстрого диагноза данных IBMFS.

Следует отметить, что только у 74% пациентов с СШД в момент постановки диагноза наблюдалось нейтропения; однако у всех пациентов в конечном итоге развилась цитопения, которая была либо персистентной, либо периодической. У пациентов с IBMFS цитопении могут быть любой тяжести и в любой комбинации (4). Это делает постановку диагноза специфического синдрома на основании только гематологических проявлений очень затруднительной. В нашем исследовании выявлены некоторые важные различия между СШД и другими IBMFS. Во-первых, сочетание изолированной нейтропении и высоких уровней фактора роста гепатоцитов или высоких уровней объема эритроцитов более вероятно связано с СШД, чем с другими IBMFS. Во-вторых, в отличие от пациентов с К/ТВН, у пациентов с СШД мало вероятно развитие тяжелой нейтропении. В-третьих, в сравнении с СШД, у пациентов с ДБА и АФ более вероятно развитие тяжелой анемии. В-четвертых, меньше пациентов с США страдают тромбоцитопенией, в сравнении с

пациентами с ВД и АФ. В-пятых, наличие многолинейной цитопении не позволяет дифференцировать СШД от ДБА. Данные результаты могут помочь ранней постановке правильного клинического диагноза и соответственному направлению на генетическое исследование.

Морфология костного мозга при СШД не специфична, но может помочь дифференцировать это заболевание от других IBMFS. В костном мозге при СШД отмечен более высокий уровень клеточности, гранулопоэза, эритропоэза и мегакариопоэза, чем при АФ. Хотя и СШД, и ВД характеризуются панцитопенией и имеют удивительно схожую морфологию костного мозга, у пациентов с СШД обычно присутствует преимущественно нейтропения, тогда как у пациентов с ВД типично присутствует преимущественно тромбоцитопения. Ни у одного из пациентов с СШД не было отмечено изолированной эритроидной гипоплазии, которая может помочь отличить ДБА от СШД. Исследование костного мозга также может помочь дифференцировать СШД и К/ТВН, так как для последнего заболевания, вероятно, характерно не снижение клеточности или мегакариопоэза, а скорее остановка созревания на стадии промиелоцита-миелоцита. Наше исследование подтвердило результаты предыдущих серий исследований, показывающих, что наиболее частым клональным цитогенетическим нарушением костного мозга у пациентов с СШД является  $i(7q)$  и делеция (20q) (4).

Клинические и лабораторные свидетельства экзокринной недостаточности поджелудочной железы отмечали у всех пациентов с СШД (1, 19). В противоположность этому, результаты нашего исследования показали, что у 15% пациентов по заключению их гастроэнтерологов отсутствовали признаки дисфункции поджелудочной железы. Более того, стеаторея, требующая лечения, зарегистрирована только у 67% этих пациентов. Эти результаты указывают на тот факт, что в подробном реестре, в который включены все пациенты с IBMFSs, можно выявить случаи с частичным фенотипом.

Мы выявили существенные отличия между пациентами с поддающимися идентификации биаллельными мутациями в *SBDS* открытой рамке считывания и пациентами без таких мутаций. У пациентов без мутаций наблюдались значимо более тяжелые гематологические заболевания и менее тяжелое заболевание поджелудочной железы. Для подтверждения этих результатов необходимо привлечение большей популяции пациентов. Примечательно, что наше исследование не включало секвенирование некодирующих регионов, и эти пациенты могли составлять группу с уникальными нарушениями в *SBDS*, а не в другом новом гене.

Большинство мутаций в *SBDS* в этой серии исследований в литературе описаны как частые (20), и только у нескольких пациентов наблюдались редкие мутации. 388G>T представляет новая мутация, которая привела к миссенс-мутации (бессмысленной) валина на лейцин в кодоне 130, нуклеотида 388 в экзоне 3 гена *SBDS*. с.621+1G>A также представляет собой новую мутацию, которая выявлена в сайте сплайсинга.

Это исследование имеет уникальную значимость за пределами модели СШД. Оно предоставляет превосходный пример того, как разные характеристики специфических IBMFS могут быть лучше определены с помощью обширного реестра всех пациентов с IBMFS и при сравнении характеристик синдрома с другими IBMFS с перекрывающимся фенотипами.

#### Список литературы

1. Aggett PJ, Cavanagh NP, Matthew DJ, Pincott JR, Sutcliffe J, Harries JT. Shwachman's syndrome. A review of 21 cases. Arch Dis Child 1980; 55(5): 331–347.
2. Burke V, Colebatch JH, Anderson CM, Simons MJ. Association of pancreatic insufficiency and chronic neutropenia in childhood. Arch Dis Child 1967; 42: 147–157.
3. Pringle EM, Young WF, Haworth EM. Syndrome of pancreatic insufficiency, blood dyscrasia, and metaphyseal dysplasia. Proc R Soc Med 1968; 61: 776–777.
4. Dror Y. Shwachman-Diamond syndrome. Pediatr Blood Cancer 2005; 45(7): 892–901.

5. Hall GW, Dale P, Dodge JA. Shwachman-Diamond syndrome: UK perspective. *Arch Dis Child* 2006; 91(6): 521–524.
6. Mack DR, Forstner GG, Wilschanski M, Freedman MH, Durie PR. Shwachman syndrome: exocrine pancreatic dysfunction and variable phenotypic expression. *Gastroenterology* 1996; 111(6): 1593–1602.
7. Ginzberg H, Shin J, Ellis L et al. Shwachman syndrome: phenotypic manifestations of sibling sets and isolated cases in a large patient cohort are similar. *J Pediatr* 1999; 135(1): 81–88.
8. Dror Y, Ginzberg H, Dalal I et al. Immune function in patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Br J Haematol* 2001; 114(3): 712–717.
9. Dror Y, Durie P, Ginzberg H et al. Clonal evolution in marrows of patients with Shwachman-Diamond syndrome: a prospective 5-year follow-up study. *Exp Hematol* 2002; 30(7): 659–669.
10. Dror Y, Durie P, Marcon P, Freedman MH. Duplication of distal thumb phalanx in Shwachman-Diamond syndrome. *Am J Med Genet* 1998; 78(1): 67–69.
11. Boocock GR, Morrison JA, Popovic M et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet* 2003; 33(1): 97–101.
12. Teo JT, Klaassen R, Fernandez CV et al. Clinical and genetic analysis of unclassifiable inherited bone marrow failure syndromes. *Pediatrics* 2008; 122(1): 139–148.
13. Dror Y. *Inherited bone marrow failure syndromes*, 3rd edn. Oxford: Blackwell Publishing, 2006.
14. Dallman PR, Siimes MA. Percentile curves for hemoglobin and red cell volume in infancy and childhood. *J Pediatr* 1979; 94(1): 26–31.
15. Incidence of aplastic anemia: the relevance of diagnostic criteria. By the International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. *Blood* 1987; 70(6): 1718–1721.
16. Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM, et al. A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia* 2003; 17: 277–282.
17. Mandel K, Dror Y, Poon A, Freedman MH. A practical comprehensive classification for pediatric myelodysplastic syndromes: the CCC system. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24: 596–605.
18. Steele JM, Sung L, Klaassen R et al. Disease progression in recently diagnosed patients with inherited marrow failure syndromes: a Canadian Inherited Marrow Failure Registry (CIMFR) report. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 47(7):918–925.
19. Cipolli M, D’Orazio C, Delmarco A, Marchesini C, Miano A, Mastella G. Shwachman’s syndrome: pathomorphosis and long-term outcome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29(3): 265–272.
20. Majeed F, Jadko S, Freedman MH, Dror Y. Mutation analysis of SBDS in paediatric acute myeloblastic leukemia with and without chromosome 7 abnormalities. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45(7): 920–924.