

М.Г. Ипатова<sup>1,2</sup>, Е.А. Деордиева<sup>3</sup>, О.А. Швец<sup>3</sup>, А.А. Мухина<sup>3</sup>, А.А. Моисеева<sup>3</sup>, Ю.А. Родина<sup>3</sup>, П.В. Шумилов<sup>1</sup>, А.В. Павлова<sup>3</sup>, Е.В. Райкина<sup>3</sup>, А.Ю. Асанов<sup>4</sup>, М.М. Литвинова<sup>4,5</sup>, А.Ю. Щербина<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Ф. Филатова, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачёва, Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

<sup>5</sup> Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова, Москва, Российская Федерация

## Генетические и клиничко-лабораторные особенности синдрома Швахмана–Даймонда в России: проспективное исследование

### Контактная информация:

Ипатова Мария Георгиевна, кандидат медицинских наук, руководитель гепатобилиарного центра ДГКБ № 13 им. Н.Ф. Филатова, доцент кафедры госпитальной педиатрии им. акад. В.А. Таболина педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (499) 766-73-20, e-mail: mariachka1@mail.ru

Статья поступила: 25.06.2019 г., принята к печати: 28.10.2019 г.

**Обоснование.** Синдром Швахмана–Даймонда (СШД) — редкое генетическое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, в основе которого лежат патогенные варианты в гене *SBDS*. Спектр вариантов гена *SBDS* у больных с СШД и особенности течения болезни в российской популяции ранее не изучались. **Цель исследования** — описать варианты гена *SBDS* и клиничко-лабораторные нарушения у детей с СШД. **Методы.** В проспективном исследовании при первичной госпитализации экзокринную функцию поджелудочной железы оценивали по активности амилазы и липазы в крови, наличию стеатореи и содержанию эластазы в кале. Гематологические нарушения определяли в клиническом анализе крови. Костные аномалии диагностировали путем рентгенологического исследования. Задержку роста устанавливали при помощи антропометрических параметров с последующим применением перцентильных кривых. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом секвенирования нового поколения и прямого секвенирования по Сенгеру. **Результаты.** Патогенные варианты гена *SBDS* (всего 8) обнаружены у 25 (89%) из 28 детей с СШД. Чаще всего (у 23 пациентов; 82%) обнаруживали вариант с.258+2T>C, из них в 18 случаях в компаунд-гетерозиготном состоянии с вариантом с.183\_184delTAinsCT. У 2 больных выявлен вариант с.653G>A (p.Arg218Gln), по одному случаю — варианты с.258+1G>A, с.107delT, с.356G>A, с.297\_300delAAGA, с.338C>T. У всех детей с СШД отмечена задержка роста, у 11 (39%) — костные аномалии. В крови у 24 (86%) детей отмечалась нейтропения, реже — анемия и тромбоцитопения. Снижение активности эластазы 1 (< 200 мкг/г) в кале обнаружено у 26 (92%) пациентов. У 21 (75%) ребенка отмечен синдром цитолиза. **Заключение.** Патогенные варианты гена *SBDS* обнаружены у большинства российских детей с СШД, чаще всего варианты с. 258+2T>C и с.183\_184delTAinsCT. Клинические симптомы синдрома Швахмана–Даймонда проявляются с первых дней жизни в виде задержки физического развития, стеатореи и гематологических нарушений.

**Ключевые слова:** дети, синдром Швахмана–Даймонда, ген *SBDS*, симптомы, лабораторные признаки, стеаторея, синдром цитолиза, эластаза кала 1.

**(Для цитирования):** Ипатова М.Г., Деордиева Е.А., Швец О.А., Мухина А.А., Моисеева А.А., Родина Ю.А., Шумилов П.В., Павлова А.В., Райкина Е.В., Асанов А.Ю., Литвинова М.М., Щербина А.Ю. Генетические и клиничко-лабораторные особенности синдрома Швахмана–Даймонда в России: проспективное исследование. *Вопросы современной педиатрии.* 2019; 18 (5): 393–400. doi: 10.15690/vsp.v18i5.2057

### ОБОСНОВАНИЕ

Синдром Швахмана–Даймонда (СШД; Shwachman–Diamond syndrome, OMIM 260400) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся недостаточностью экзокринной функции поджелудочной железы, дисфункцией костного мозга (нейтропения, анемия, реже тромбоцитопения), задержкой роста и скелетными аномалиями [1, 2]. СШД в 90% случаев вызван патогенными вариантами гена *SBDS* (OMIM 607444) [3]. Ген расположен на хромосоме 7

(7q11) и состоит из 5 экзонов, кодирующих белок из 250 аминокислот [3]. Наиболее частыми патогенными вариантами гена *SBDS* (до 80% всех случаев СШД) являются с.183\_184delTAinsCT и с.258+2T>C [4–6]. В 10% случаев обнаруживаются миссенс- и нонсенс-варианты, крупные делеции, которые могут располагаться в любом из экзонов гена *SBDS* [6, 7]. У 10% больных изменения в нуклеотидной последовательности гена *SBDS* не идентифицируются [8], что указывает на патогенетическую роль других генов.

Белок SBDS локализуется в ядрышках, преимущественно в участке биосинтеза рибосом. Он является телосомсвязывающим белком в клеточном цикле, который во время S-фазы митоза принимает участие в удлинении теломер хромосом за счет регулирования функции теломеразы [9–11]. Известно, что низкая активность теломеразы у пациентов с СШД способствует укорочению теломер на 20–50% по сравнению со здоровыми людьми, преждевременному старению и гибели клеток [12–14].

Для СШД характерна экзокринная недостаточность поджелудочной железы с рождения с последующим появлением клинических признаков дефицита жирорастворимых витаминов А, D, Е и К, белково-энергетической недостаточности разной степени тяжести [9, 12]. У большинства пациентов определяется снижение уровня панкреатической амилазы и липазы в крови [9, 12, 15], у 50–75% — повышение активности трансаминаз печени [9, 12]. В 88–100% случаев обнаруживаются гематологические нарушения, в частности нейтропения, которую можно диагностировать уже в неонатальном периоде [9, 16, 17]. У 80% пациентов наблюдается анемия, несколько реже (у 24–88%) — тромбоцитопения [9, 18]. Пациенты с СШД относятся к группе высокого риска развития цитогенетических аномалий и в последующем миелодиспластического синдрома и острого миелобластного лейкоза [19–21]. Из костной патологии распространены низкий рост, отставание костного воз-

раста, аномалии развития грудной клетки, гипоплазия фаланг, клинодактилия, метафизарная дисхондроплазия, вальгусная или варусная деформация стоп [8, 13]. Приблизительно у половины детей (45%) с СШД обнаруживается снижение минеральной плотности костной ткани [8, 13]. Существенной проблемой для пациентов с СШД являются заболевания полости рта и зубов: рецидивирующие стоматиты, периодонтиты, нарушение минерализации эмали зубов, что ведет к прогрессирующему множественному кариесу [1, 2, 21].

Распространенность СШД в России неизвестна. Не изучались в России и генетические особенности СШД. По нашему мнению, диагноз СШД часто остается неустановленным или устанавливается слишком поздно, что ухудшает прогноз для данной группы пациентов. Дети с СШД могут наблюдаться у врача с такими диагнозами, как синдром мальабсорбции, пищевая аллергия (гастроинтестинальная форма), муковисцидоз, нейтропения (младенческая форма), первичный иммунодефицит.

**Цель исследования** — описать варианты гена SBDS и клинико-лабораторные нарушения у детей с СШД.

#### МЕТОДЫ

Все дети с СШД (28 детей) наблюдаются в 2 стационарах: по гематологическому профилю — в НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва, по педиатрическому профилю — в ДГКБ № 13 им. Н. Ф. Филатова.

Maria G. Ipatova<sup>1, 2</sup>, Ekaterina A. Deordieva<sup>3</sup>, Oksana A. Shvets<sup>3</sup>, Anna A. Mukhina<sup>3</sup>, Anna A. Moiseeva<sup>3</sup>, Yulya A. Rodina<sup>3</sup>, Petr V. Shumilov<sup>1</sup>, Anna V. Pavlova<sup>3</sup>, Elena V. Raikina<sup>3</sup>, Aliy Yu. Asanov<sup>4</sup>, Maria M. Litvinova<sup>4, 5</sup>, Anna Y. Shcherbina<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Filatov Children's City Hospital № 13, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

<sup>5</sup> Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russian Federation

## Genetic and Clinical Features of Shwachman–Diamond Syndrome in Russian Population: Prospective Study

**Background.** Shwachman–Diamond syndrome (SDS) is the rare genetic autosomal recessive disorder with pathogenic variants in SBDS gene. The spectrum of SBDS gene variants in patients with SDS and features of disease course have not been studied before in Russian population. **Objective.** The aim of the study was to describe all the variants of SBDS gene and clinical and laboratory abnormalities in children with SDS. **Methods.** In this prospective study exocrine pancreatic function was estimated by amylase and lipase activity in blood, steatorrhea presence and stool elastase levels during the initial hospitalization. Haematological disorders were analysed by complete blood count. Bone abnormalities were diagnosed via X-ray imaging. Growth delay was established due to anthropometry indicators and percentile curves. Molecular genetic testing was performed with using next generation sequencing and Sanger sequencing. **Results.** Pathogenic variants in SBDS gene (8 in general) were revealed in 25 (89%) out of 28 children with SDS. The most common variant (in 23 patients, 82%) was c.258+2T>C, and in 18 cases it was in compound heterozygous state with c.183\_184delTAinsCT. Two patients had c.653G>A (p.Arg218Gln) variant and for one patient for every of the following variants: c.258+1G>A, c.107delT, c.356G>A, c.297\_300delAAGA, c.338C>T. All children with SDS had growth delay, in 11 (39%) cases we revealed bone abnormalities. In blood samples of 24 (86%) children we revealed neutropenia and less frequently anemia and thrombocytopenia. The stool elastase I decreased activity (< 200 µg/g) was revealed in 26 (92%) patients. 21 (75%) children had cytolysis syndrome. **Conclusion.** Pathogenic variants of SBDS gene were revealed in majority of Russian children with SDS. The most frequent are c.258+2T>C and c.183\_184delTAinsCT variants. Clinical signs of Shwachman–Diamond syndrome manifest since birth with growth delay, steatorrhea and haematological disorders.

**Key words:** children, Shwachman–Diamond syndrome, SBDS gene, symptoms, laboratory signs, steatorrhea, cytolysis syndrome, stool elastase I.

**(For citation:** Ipatova Maria G., Deordieva Ekaterina A., Shvets Oksana A., Mukhina Anna A., Moiseeva Anna A., Rodina Yulya A., Shumilov Petr V., Pavlova Anna V., Raikina Elena V., Asanov Aliy Yu., Litvinova Maria M., Shcherbina Anna Y. Genetic and Clinical Features of Shwachman–Diamond Syndrome in Russian Population: Prospective Study. *Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics*. 2019; 18 (5): 393–400. doi: 10.15690/vsp.v18i5.2057)

Результаты обследования 14 пациентов с генетически подтвержденным СШД опубликованы ранее [15].

### Дизайн исследования

Проведено проспективное исследование.

### Критерии соответствия

Критерии включения:

- пациенты с установленным диагнозом «Синдром Швахмана–Даймонда» в возрасте до 18 лет;
- подписанное родителями или законными представителями пациента информированное согласие на проведение лабораторно-инструментальных исследований и обработку данных.

### Диагностические критерии

Диагноз СШД устанавливали или верифицировали в соответствии со следующими основными критериями при первичной госпитализации ребенка [15]:

- 1) синдром мальабсорбции жиров (стеаторея — наличие в копрограмме нейтрального жира, снижение эластазы кала — нижний предел 200 мкг/г при отрицательном результате потового теста);
- 2) гематологические нарушения в клиническом анализе крови (снижение концентрации гемоглобина, абсолютного числа нейтрофилов, тромбоцитопения) ниже референсных значений с учетом возраста пациента;
- 3) задержка физического развития с применением перцентильных кривых (норма 25–75-й перцентиль).

К дополнительным критериям относили наличие синдрома цитолиза при отрицательных маркерах вирусных гепатитов, снижение активности панкреатической амилазы и липазы в биохимическом анализе крови.

### Условия проведения

В исследование включали больных, госпитализированных в Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачёва (Москва) и Детскую городскую клиническую больницу № 13 им. Н. Ф. Филатова (Москва), в обоих центрах — в период с сентября 2010 по март 2019 г.

### Целевые показатели исследования

Основной показатель: спектр вариантов гена *SBDS* у пациентов с СШД.

Дополнительные показатели: клинико-лабораторные признаки СШД.

### Генетическое тестирование

Для молекулярно-генетического исследования использовали образец цельной венозной крови (объем 2 мл), взятый в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА. Геномную ДНК из клеток крови больных выделяли с использованием набора реагентов DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Голландия) в соответствии с протоколом производителя.

Варианты гена *SBDS* детектировали методом прямого секвенирования по Сэнгеру (у 18 пациентов) и методом секвенирования нового поколения (у 10 пациентов). В ходе секвенирования были исследованы экзоны 1–5 гена *SBDS*, а также прилегающие к ним интронные области. Секвенирование по Сэнгеру осуществлялось на приборе ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, США). Интересующие области гена *SBDS* амплифицировали с помощью специфичных праймеров для последующего

проведения секвенирования с использованием набора BigDye Terminator Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Полученный в результате реакции меченый продукт очищали от компонентов реакционной смеси, а затем разделяли ампликоны с помощью капиллярного электрофореза. Секвенирование нового поколения производили на платформе MiSeq (Illumina, США). Для этого из предварительно фрагментированной и очищенной ДНК подготавливали библиотеки с использованием набора NEB Next Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs, Великобритания). Далее формировали пул проиндексированных образцов для проведения гибридизации с библиотекой зондов набором SeqCap EZ Accessory Kit v2 (Roche Nimble Gen, Германия) согласно протоколу производителя. Все выявленные методом секвенирования нового поколения варианты гена *SBDS* в последующем верифицировали методом прямого секвенирования по Сэнгеру.

Оценку патогенности вариантов гена *SBDS* проводили с использованием баз данных Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Human Gene Mutation Database (HGMD), Clinically Relevant Variation (ClinVar).

### Лабораторные и инструментальные исследования

Всем детям в анализируемой группе при первичной госпитализации для обследования проводили стандартные клинические, биохимические и иммунологические исследования — клинический и биохимический анализы крови. Для изучения экзокринной функции поджелудочной железы оценивали активность амилазы и липазы в крови, эластазы 1 в кале, наличие стеатореи в кале. Для диагностики костных аномалий проводили рентгенологические исследования грудной клетки и бедренных костей.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования было одобрено Этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова (протокол № 136 от 13.12.2010 г.).

### Статистический анализ

Анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ R Studio 1.0.1136 (R3.3.1, R-Tools Technology Inc., США). Описание количественных показателей представлено с указанием диапазона значений, а также медианы (25-й; 75-й перцентили).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

#### Общая характеристика выборки

В исследование были включены 28 пациентов с диагнозом СШД (из них 12 девочек, 43%) в возрасте от 1 года 1 мес до 15 лет 5 мес, медиана возраста 4,5 (2,5; 8,0) года. Возраст детей на момент дебюта заболевания составил от 1 до 4,3 мес, медиана 1,5 (0,5; 3,0) мес, на момент постановки диагноза — от 8 мес до 15 лет, медиана 1,2 (0,8; 1,8) года, время запаздывания в постановке диагноза варьировало в пределах от 3 мес до 15 лет, медиана 1,95 (0,6; 1,5) года.

#### Варианты гена *SBDS*

Всего обнаружено 8 вариантов гена *SBDS* (табл. 1). Хотя бы один патогенный вариант был обнаружен у 25 (89%) из 28 пациентов: у 23 — вариант

**Таблица 1.** Варианты гена *SBDS* у больных СШД российского происхождения в сравнении с их популяционной частотой  
**Table 1.** *SBDS* gene variants in Russian patients with SDS in comparison with population frequency

Патогенный вариант гена <i>SBDS</i>	Больные СШД, n = 28 (%)	Популяционная частота*, %
c.258+2T>C	23 (82)	0,4
c.183_184delTAinsCT	18 (64)	0,04
c.653G>A (p.Arg218Gln)	2 (7)	0,001

Примечание. \* — данные для европейской популяции (ExAC Browser: <http://exac.broadinstitute.org/>). СШД — синдром Швахмана–Даймонда.  
 Note. \* — data for European population (ExAC Browser: <http://exac.broadinstitute.org/>). СШД — Shwachman–Diamond syndrome.

c.258+2T>C (аллельная частота 41%), у 18 — вариант c.183\_184delTAinsCT (аллельная частота 32%), у 2 — вариант c.653G>A (p.Arg218Gln) (аллельная частота 4%), по одному случаю — варианты c.258+1G>A, c.107delT, c.356G>A (p.C119Y), c.297\_300delAAGA (p.Glu99Aspfs) и c.338C>T (p.Thr113 Thr). Последние два варианта — у 1 больного. В большинстве случаев (у 18 пациентов) вариант c.258+2T>C сочетался в компаунд-гетерозиготной форме с вариантом c.183\_184delTAinsCT, у 2 пациентов — с c.653G>A, по одному случаю — с c.258+1G>A, c.107delT и c.356G>A (табл. 2). У одного ребенка c.258+2T>C была с делецией участка экзона и интрона 2.

#### Клинические особенности СШД

При первичном поступлении в стационар у всех пациентов отмечены жалобы на задержку физического развития, плохую прибавку массы тела, неоформленный жирный стул от 1 до 6 раз/сут, периодическую боль в животе. Задержка роста в 5 (18%) случаях была ниже 3-го перцентиля, в 19 (68%) — ниже 10-го перцентиля, у 4 детей (14%) рост был менее 25-го перцентиля. Дефекты со стороны костной системы были выявлены у 11 (39%) больных, из них метафизарная хондродисплазия — у 7, килевидная деформация грудной клетки — у 4, незаращение твердого неба — у 3 (см. табл. 2). У всех детей были выявлены дефекты зубной эмали, а в 22 (79%) случаях — множественный кариес.

#### Лабораторные особенности СШД

Во время первичной госпитализации в общем анализе крови у 13 (46%) детей выявлена анемия легкой степени (концентрация гемоглобина 90–110 г/л), у 6 (21%) — тромбоцитопения ( $< 180 \times 10^9$ /л), у 24 (86%) детей — нейтропения (абсолютное количество нейтрофилов  $< 1000$  кл/л), из них у 11 — агранулоцитоз ( $< 500$  кл/л).

У всех детей с СШД при первичной госпитализации обнаружены лабораторные признаки недостаточности экзокринной функции поджелудочной железы в виде выраженной стеатореи и снижения активности эластазы 1 в кале: у 26 (92%) пациентов — тяжелой степени (эластаза 1 в кале  $< 100$  мкг/г), у 2 детей — умеренной степени ( $< 200$  мкг/г). Медиана значения эластазы 1 в кале была равна 15 (15; 50) мкг/г.

У 26 (93%) детей наблюдалось снижение активности амилазы крови (норма 22–80 Ед/л), медиана 8,0 (4,0; 13,5) Ед/л, у 26 (92,8%) — снижение активности липазы крови (норма 13–60 Ед/л), медиана 4,5 (4,0; 8,0) Ед/л. У 2 детей с нормальной активностью амилазы и липазы в крови активность эластазы 1 кала составила  $> 100$  мкг/г. У 21 (75%) пациента отмечался изолированный синдром цитолиза (аланинаминотранс-

фераза, АЛТ,  $\geq 40$  Ед/л) с преобладанием случаев с АЛТ от 2 до 10 норм, медиана 68 (38; 181) Ед/л.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Резюме основного результата исследования

У пациентов с СШД российского происхождения выявлены 8 вариантов гена *SBDS*, из них самыми частыми были варианты c.258+2T>C и c.183\_184delTAinsCT. К основным клинико-лабораторным проявлениям (речь идет о признаках болезни в период ее разгара) СШД можно отнести задержку роста, различные дефекты со стороны костной системы, нейтропению (реже — анемию, тромбоцитопению), снижение активности эластазы 1 в кале, снижение активности амилазы и липазы в сыворотке крови на фоне повышения активности АЛТ в сыворотке крови.

### Ограничения исследования

Изученная в исследовании выборка пациентов с СШД ограничена в связи с тем, что СШД является орфанным заболеванием с частотой менее 1:77 000 [2].

Следует учитывать, что даже при секвенировании всей кодирующей последовательности гена в некоторых случаях обнаружить молекулярную причину заболевания не удается. В данном исследовании у 3 больных с клинико-лабораторными признаками СШД секвенирование экзонов 1–5 гена *SBDS* вместе с экзон-интронными соединениями патогенных вариантов не выявило. Возможно, это связано с наличием мутаций в некодирующих участках гена, в частности глубоко в интронах, а также в промоторной зоне гена *SBDS*. В том числе не исключено наличие у этих пациентов протяженных делеций, не выявляемых использованными молекулярно-генетическими методами.

### Обсуждение основного результата исследования

#### Генетические особенности синдрома

#### Швахмана–Даймонда у российских пациентов

Частота гетерозиготного носительства патогенного варианта c.258+2T>C (rs113993993) в гене *SBDS* в общей популяции Европы ( $n = 1004$ ) составляет 0,4% (см. табл. 1). В группе больных с СШД данная мутация была обнаружена неоднократно [3, 16, 22]. По данным европейских исследователей, при генотипировании 20 больных с СШД вариант c.258+2T>C был детектирован в 55% случаев [22]. По данным японских исследований, при обследовании 6 семей с этим заболеванием в 4 из них была обнаружена мутация c.258+2T>C, что может указывать на высокую распространенность этой замены среди пациентов японского происхождения [7]. В настоящем исследовании вариант c.258+2T>C обнаружен у 82% пациентов.

**Таблица 2.** Клинико-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика детей с синдромом Швахмана–Даймонда ( $n = 28$ )  
**Table 2.** Clinical and laboratory and molecular and genetic characteristics of children with Shwachman–Diamond syndrome ( $n = 28$ )

Пациент (пол)	Возраст, лет	Варианты гена SBDS	Костные аномалии	Синдром цитоплазматической лизиса, (норма АЛТ < 40 Ед/л)	Панкреатическая амилаза, Ед/л (норма 22–80)	Липаза, Ед/л (норма 10–34)	Анемия (Hb < 110 г/л)	Нейтропения (АКН)	Тромбоцитопения (< 150 тыс.)	Эластаза кала
1 (муж)	1,5	c.258+2T>C / c.653G>A (p.Arg218Gln)	Килевидная деформация грудной клетки	↑ / (10 N)	↓	↓	+	+ (< 500)	N	↓↓
2 (муж)	5,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	Метафизарная дисхондроплазия	↑ / (8 N)	↓	↓	+	+ (< 500)	N	↓↓
3 (жен)	4,5	c.258+1G>A / c.258+2T>C	-	N	↓	↓	+	+ (< 1000)	+	↓↓
4 (жен)	5,5	c.297_300delAAGA (p.Glu99Aspfs) / c.338C>T (p.Thr113Thr)	Метафизарная дисхондроплазия	↑ / (2 N)	↓	↓	N	+ (< 1000)	N	↓↓
5 (муж)	3,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (3 N)	↓	↓	N	> 1000	N	↓↓
6 (жен)	2,5	c.258+2T>C / делеция участка экзона и интрона 2	-	↑ / (8 N)	↓	↓	+	+ (< 1000)	N	↓↓
7 (муж)	11	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	Метафизарная дисхондроплазия	↑ / (2 N)	↓	↓	N	> 1000	N	↓↓
8 (жен)	2,5	Не выявлены	Килевидная деформация грудной клетки, метафизарная дисхондроплазия	↑ / (3 N)	↓	↓	N	+ (< 500)	+	↓↓
9 (жен)	15,5	c.258+2T>C / c.183_184delTAinsCT	-	N	N	N	N	+ (< 1000)	N	126
10 (муж)	15,5	c.258+2T>C / c.183_184delTAinsCT	-	N	N	N	N	> 1000	N	112
11 (муж)	2,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (6 N)	↓	↓	N	> 1000	N	↓↓
12 (жен)	4,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (2 N)	↓	↓	N	+ (< 1000)	N	↓↓
13 (жен)	4	Не выявлены	-	↑ / (2 N)	↓	↓	+	+ (< 1000)	N	↓↓
14 (муж)	1,5	c.258+2T>C / c.653G>A	Килевидная деформация грудной клетки, незаращение твердого неба	↑ / (3 N)	↓	↓	N	+ (< 1000)	N	↓↓
15 (муж)	2	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (6 N)	↓	↓	N	+ (< 1000)	N	↓↓

Таблица 2. Продолжение

Пациент (пол)	Возраст, лет	Варианты гена SBDS	Костные аномалии	Синдром цитоплиазы, (норма АЛТ < 40 Ед/л)	Панкреатическая амилаза, Ед/л (норма 22–80)	Липаза, Ед/л (норма 10–34)	Анемия (Hb < 110 г/л)	Нейтропения (АКН)	Тромбоцитопения (< 150 тыс.)	Эластаза кала
16 (жен)	8,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	Метафизарная дисхондроплазия	↑ / (4 N)	↓	↓	+	+	N	↓↓
17 (жен)	3,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (8 N)	↓	↓	N	+	+	↓↓
18 (муж)	3,5	c.107delT / c.258+2T>C	-	↑ / (4 N)	↓	↓	N	+	N	↓↓
19 (муж)	2	c.258+2T>C / c.183_184delTAinsCT	-	↑ / (2 N)	↓	↓	+	+	+	↓↓
20 (муж)	15	Не выявлены	Метафизарная дисхондроплазия	↑ / (2 N)	↓	↓	+	+	N	↓↓
21 (муж)	13	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	Метафизарная дисхондроплазия, незаращение твердого неба	↑ / (2 N)	↓	↓	+	+	+	↓↓
22 (муж)	8	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	N	↓	↓	N	+	N	↓↓
23 (муж)	5,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	N	↓	↓	+	+	N	↓↓
24 (жен)	5	c.356G>A / c.258+2T>C	-	N	↓	↓	N	+	N	↓↓
25 (муж)	3,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (6 N)	↓	↓	+	+	N	↓↓
26 (жен)	8 мес	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	Незаращение твердого неба	N	↓	↓	N	+	N	↓↓
27 (муж)	5,5	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	Килевидная деформация грудной клетки	↑ / (3 N)	↓	↓	+	+	N	↓↓
28 (жен)	1	c.183_184delTAinsCT / c.258+2T>C	-	↑ / (5 N)	↓	↓	+	+	+	↓↓

Примечание. В таблице приведена характеристика пациентов на момент установления диагноза синдрома Швахмана–Даймонда (первичная госпитализация). ↑ — повышение значений показателя, ↓ — снижение значений показателя, N — показатель в пределах референсных значений, «+» — наличие симптома у пациента, «-» — отсутствие симптома у пациента; АКН — абсолютное число нейтрофилов;

< 1000 — нейтропения, < 500 — агранулоцитоз; эластаза кала: ↓↓ — < 100 мкг/г, «-» — не обнаружены.

Note. This table shows the patients' characteristic on the date of Schwachman–Diamond syndrome diagnosing (initial hospitalization). ↑ — increase of index, ↓ — decrease of index, N — index is in the reference limits, «+» — existence of the symptom in patient, «-» — absence of the symptom in patient; ANC — absolute neutrophil count: < 1000 — neutropenia, < 500 — agranulocytosis; stool elastase: ↓↓ — < 100 µg/g, «-» — negative.

Мутация с.183\_184delTAinsCT (rs120074160) встречается в общей популяции Европы с частотой 0,04% (см. табл. 1). При секвенировании всей последовательности гена *SBDS* у 20 пациентов с СШД (европейская популяция) мутация с.183\_184delTAinsCT была также выявлена в 55% случаев [22]. При этом у большинства больных она сочеталась с патогенным вариантом с.258+2T>C. По данным другого крупного европейского исследования, в котором обследовали 141 семью с больным СШД, мутации с.258+2T>C и с.183\_184delTAinsCT оказались ответственны за развитие заболевания в 50% случаев [3]. В настоящем исследовании мутация с.183\_184 TA>CT гена *SBDS* была выявлена у 64% больных. Как было указано выше, этот генный дефект чаще всего сочетается с вариантом с.258+2T>C.

Кроме описанных выше вариантов, у 2 неродственных больных нами выявлен патогенный вариант с.653G>A (p.Arg218Gln), описанный ранее и упоминаемый в международных геномных базах данных [23]. Таким образом, генотипирование пациентов с подозрением на СШД целесообразно начинать с поиска трех наиболее частых мутаций — с.258+2T>C, с.183\_184delTAinsCT, с.653G>A (p.Arg218Gln), которые, по нашим данным, в совокупности ответственны за 89% случаев СШД. Вместе с тем в некоторых случаях секвенирование всей кодирующей последовательности и интрон-экзонных областей гена *SBDS* все же необходимо. В данном исследовании такой подход позволил обнаружить у больных дополнительные редкие мутации: с.258+1G>A, с.107delT, с.356G>A (p.C119Y), с.297\_300delAAGA (p.Glu99Aspfs), с.338C>T (p.Thr113 Thr).

#### **Клинико-лабораторные особенности синдрома Швахмана–Даймонда у российских пациентов**

У всех детей отмечались задержка роста и патология зубов, почти у половины пациентов — различные дефекты со стороны костной системы. Представленные нами данные согласуются с результатами исследования T. Kijjers и соавт., в котором аномалии костной системы были выявлены у 15 (65%) из 23 пациентов с СШД [22].

При лабораторном обследовании у большинства детей с СШД в клиническом анализе крови выявляется нейтропения, у половины — анемия легкой степени, у каждого пятого — тромбоцитопения. Угрожаемым для жизни состоянием является агранулоцитоз, который в нашей работе был выявлен в 39% случаев и требовал назначения препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, низкие дозы которых, по нашему опыту, эффективно контролируют течение агранулоцитоза при СШД в отличие от других видов врожденных нейтропений.

У половины пациентов отмечалось повышение активности щелочной фосфатазы выше референсных значений при нормальном уровне других показателей холестаза (гамма-глутамилтранспептидазы и билирубина за счет прямой фракции). Мы расценили данное отклонение как показатель «костной» фракции. Известно, что «костную» щелочную фосфатазу продуцируют остеобласты — крупные одноядерные клетки, лежащие на поверхности костного матрикса в местах интенсивного формирования кости. Таким образом, повышение щелочной фосфатазы у данной группы пациентов могло служить показателем остеопороза или другой патологии костной системы. Также для СШД в биохимическом анализе крови характерен синдром цитоллиза (повышение активности АЛТ и АСТ от 2 до 10 норм), особенно среди детей раннего возраста.

В нашем исследовании диагноз СШД подтвержден молекулярно-генетическим методом в 92,9% случаев. На примере представленной выборки больных видно, что у пациентов с СШД, проживающих на территории РФ, преобладают те же мутации гена *SBDS*, что и на территории Европы, а именно с.258+2T>C и с.183\_184delTAinsCT [5, 22]. Также обнаружена еще одна повторяющаяся мутация с.653G>A (p.Arg218Gln), которая была выявлена у двух неродственных больных российского происхождения.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Клинические симптомы синдрома Швахмана–Даймонда проявляются с первых дней жизни в виде задержки физического развития, стеатореи и гематологических нарушений. Однако возраст детей на момент постановки диагноза в нашем исследовании варьировал в широких пределах и в среднем составил 2,4 года. Это свидетельствует об отсутствии настороженности педиатров и гастроэнтерологов в отношении СШД, т.к. у большинства детей уже в раннем возрасте отмечен весь типичный комплекс симптомов. Своевременная диагностика и комплексная терапия, включающая нутритивную поддержку, ферментозаместительную терапию, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, гепатопротекторы, витаминотерапию, улучшают качество жизни и прогноз у пациентов с данным заболеванием.

#### **ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ**

Выражаем признательность С. П. Блох и Д. Л. Шагаловой, которые участвовали в ранней фазе исследования [15].

#### **ВКЛАД АВТОРОВ**

Ипатова М. Г., Деордиева Е. А., Шумилов П. В., Литвинова М. М., Щербина А. Ю. участвовали в разработке дизайна исследования.

Литвинова М. М., Асанов А. Ю., Павлова А. В., Райкина Е. В. проводили генетические исследования и обобщали материал, связанный с генетическими аспектами СШД.

Ипатова М. Г., Деордиева Е. А., Швец О. А., Мухина А. А., Моисеева А. А., Родина Ю. А., Щербина А. Ю. проводили диагностику и лечение пациентов во время госпитализации.

#### **ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ**

Не указан.

#### **FINANCING SOURCE**

Not specified.

#### **КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

#### **CONFLICT OF INTERESTS**

Not declared.

#### **ORCID**

**М. Г. Ипатова**

<http://orcid.org/0000-0003-0295-4820>

**У. Ф. Деордиева**

<http://orcid.org/0000-0002-8208-2075>

**П. В. Шумилов**

<http://orcid.org/0000-0002-9567-6761>

**А. В. Павлова**

<http://orcid.org/0000-0002-3974-5662>

**Е. В. Райкина**

<http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

**А. Ю. Асанов**

<http://orcid.org/0000-0002-5388-8133>

**М. М. Литвинова**

<http://orcid.org/0000-0002-1863-3768>

**А. Ю. Щербина**

<http://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shwachman H, Diamond LK, Oski FA, Khaw KT. The syndrome of pancreatic insufficiency and bone marrow dysfunction. *J Pediatr*. 1964;65:645–663. doi: 10.1016/s0022-3476(64)80150-5.
2. Goobie S, Popovic M, Morrison J, et al. Shwachman-Diamond syndrome with exocrine pancreatic dysfunction and bone marrow failure maps to the centromeric region of chromosome 7. *Am J Hum Genet*. 2001;68(4):1048–1054. doi: 10.1086/319505.
3. Boockvar GR, Morrison JA, Popovic M, et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet*. 2003;33(1):97–101. doi: 10.1038/ng1062.
4. Woloszynek JR, Rothbaum RJ, Rawls AS, et al. Mutations of the SBDS gene are present in most patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Blood*. 2004;104(12):3588–3590. doi: 10.1182/blood-2004-04-1516.
5. Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, et al.; Associated investigators of the French Severe Chronic Neutropenia Registry. Classification of and risk factors for hematologic complications in a French national cohort of 102 patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Haematologica*. 2012;97(9):1312–9131. doi: 10.3324/haematol.2011.057489.
6. Nicolis E, Bonizzato A, Assael BM, Cipolli M. Identification of novel mutations in patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Hum Mutat*. 2005;25(4):410. doi: 10.1002/humu.9324.
7. Nakashima E, Mabuchi A, Makita Y, et al. Novel SBDS mutations caused by gene conversion in Japanese patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Hum Genet*. 2004;114(4):345–348. doi: 10.1007/s00439-004-1081-2.
8. Burroughs L, Woolfrey A, Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome: a review of the clinical presentation, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(2):233–248. doi: 10.1016/j.hoc.2009.01.007.
9. Dror Y, Donadieu J, Koglmeyer J, et al. Draft consensus guidelines for diagnosis and treatment of Shwachman-Diamond syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1242:40–55. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06349.x.
10. Austin KM, Leary RJ, Shimamura A. The Shwachman-Diamond SBDS protein localizes to the nucleolus. *Blood*. 2005;106(4):1253–1258. doi: 10.1182/blood-2005-02-0807.
11. Lesesve JF, Dugue F, Gregoire MJ, et al. Shwachman-Diamond syndrome with late-onset neutropenia and fatal acute myeloid leukaemia without maturation: a case report. *Eur J Haematol*. 2003;71(5):393–395. doi: 10.1034/j.1600-0609.2003.00146.x.
12. 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. doi: 10.1016/s0301-472x(02)00815-9.
13. Makitie O, Ellis L, Durie PR, et al. Skeletal phenotype in patients with Shwachman-Diamond syndrome and mutations in SBDS. *Clin Genet*. 2004;65(2):101–112. doi: 10.1111/j.0009-9163.2004.00198.x.
14. Aggett PJ, Cavanagh NP, Matthew DJ, et al. Shwachman's syndrome. A review of 21 cases. *Arch Dis Child*. 1980;55(5):331–347. doi: 10.1136/adc.55.5.331
15. Ипатова М.Г., Шумилов П.В., Блох С.П., и др. Особенности экзокринной и эндокринной функций поджелудочной железы у детей с синдромом Швахмана–Даймонда // *Педиатрия. Журн. им. Г.Н. Сперанского*. — 2017. — Т. 96. — № 6. — С. 48–52. [Ipatova MG, Shumilov PV, Blokh SP, et al. Peculiarities of pancreas exocrine and endocrine functions in children with Shwachman-Diamond syndrome. *Zhurnal imeni G.N. Speranskogo. Peditria*. 2017;96(6):48–52. (In Russ).] doi: 10.24110/0031-403X-2017-96-6-48-52.
16. Kuijpers TW, Nannenberg E, Alders M, et al. Congenital aplastic anemia caused by mutations in the SBDS gene: a rare presentation of Shwachman-Diamond syndrome. *Pediatrics*. 2004;114(3):e387–391. doi: 10.1542/peds.2003-0651-F.
17. Barrios N, Kirkpatrick D, Regueira O, et al. Bone marrow transplant in Shwachman Diamond syndrome. *Br J Haematol*. 1991;79(2):337–338. doi: 10.1111/j.1365-2141.1991.tb04545.x
18. Smith OP, Hann IM, Chessells JM, et al. Haematological abnormalities in Shwachman-Diamond syndrome. *Br J Haematol*. 1996;94(2):279–284. doi: 10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1788.x
19. Dror Y, Squire J, Durie P, Freedman MH. Malignant myeloid transformation with isochromosome 7q in Shwachman-Diamond syndrome. *Leukemia*. 1998;12(10):1591–1595. doi: 10.1038/sj.leu.2401147
20. Passmore SJ, Hann IM, Stiller CA, et al. Pediatric myelodysplasia: a study of 68 children and a new prognostic scoring system. *Blood*. 1995;85(7):1742–1750. doi: 10.1182/blood.v85.7.1742.bloodjournal8571742
21. Ипатова М.Г., Куцев С.И., Шумилов П.В., и др. Краткие клинические рекомендации по ведению больных с синдромом Швахмана–Даймонда // *Педиатрия. Журн. им. Г.Н. Сперанского*. — 2016. — Т. 95. — № 6. — С. 181–186. [Ipatova MG, Kutsev SI, Shumilov PV, et al. Brief recommendations for management of patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Zhurnal imeni G.N. Speranskogo. Peditria*. 2016;95(6):181–186. (In Russ).]
22. Kuijpers TW, Alders M, Tool AT, et al. Hematologic abnormalities in Shwachman Diamond syndrome: lack of genotype-phenotype relationship. *Blood*. 2005;106(1):356–361. doi: 10.1182/blood-2004-11-4371.
23. Finch AJ, Hilcenko C, Basse N, et al. Uncoupling of GTP hydrolysis from eIF6 release on the ribosome causes Shwachman-Diamond syndrome. *Genes Dev*. 2011;25(9):917–929. doi: 10.1101/gad.623011.