

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ЭРИТРОЦИТОЗ У РЕБЕНКА: КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ С ВЫЯВЛЕНИЕМ НОВОГО ВАРИАНТА В ГЕНЕ *EPOR*

Гурьянова И.Е., Жаранкова Ю.С., Бобрик П.Ю., Любушкин А.В.,
Серафимович А.С., Вертёлко В.Р., Солнцева А.В.

*Республиканский научно-исследовательский центр детской онкологии,
гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь*

Актуальность. Эритроцитоз характеризуется увеличением уровня гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов в периферической крови. Он может быть первичным, обусловленным нарушениями в эритроидном ростке, или вторичным и связанным с внешними факторами, включая гипоксию или избыточную продукцию эритропоэтина. Наиболее распространенной формой первичного эритроцитоза является истинная полицитемия, ассоциированная с вариантами в гене *JAK2*, выявляемыми примерно у 98% пациентов [1]. Несмотря на то, что в литературе описаны отдельные генетические варианты при *JAK2*-негативной полицитемии, у значительной доли пациентов с эритроцитозом, даже после исключения вторичных причин, этиология заболевания остается неустановленной [1]. В числе наследственных форм эритроцитоза при *JAK2*-негативной полицитемии особое место занимает первичная семейная и врожденная полицитемия, обусловленная вариантами в гене *EPOR*. Эти варианты вызывают гиперчувствительность эритроидных клеток к эритропоэтину за счет нарушения механизмов негативной регуляции сигнального пути, что проявляется повышением продукции эритроцитов с раннего возраста [2]. Несмотря на редкость заболевания, выявление таких вариантов имеет принципиальное значение для дифференциальной диагностики и выбора тактики ведения пациентов.

Цель. Поиск генетической причины эритроцитоза у пациента детского возраста.

Материалы и методы исследования. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полноэкзомное секвенирование выполняли на генетическом анализаторе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) с использованием набора для подготовки библиотек MGIEasy FS Library Prep Set (MGI, Китай) и зондов Exome Capture V5 Probe Set (MGI, Китай). Биоинформатическую обработку данных проводили с использованием платформы ZLIMS (MGI, Китай) с последующей аннотацией и фильтрацией вариантов в онлайн-ресурсе Franklin (Qiagen, Германия). Выявленные варианты анализировали с применением онлайн-ресурсов Varsome (<https://varsome.com>) и ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>). Подлинность наличия вариантов с частотой встречаемости в популяциях <1% (по gnomAD) проверяли в Integrative Genomics Viewer (Broad Institute, Великобритания). Подтверждение выявленного клинически-значимого варианта осуществляли методом автоматического секвенирования по Сенгеру на анализаторе 3500 Applied

Biosystems (Thermo Scientific, США) с праймерами собственного дизайна, синтезированными компанией Праймтех (Беларусь).

Результаты и их обсуждение. Пациент (2014 г.р.) впервые направлен на обследование в возрасте 8 лет в связи с выявленным повышением уровня гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов. При первичном осмотре отмечались гиперемия кожных покровов лица и умеренная спленомегалия. По данным общего анализа крови выявлено повышение гемоглобина до 194 г/л, эритроцитов до $7,15 \times 10^{12}/л$ и гематокрита до 62%, при нормальных значениях лейкоцитов и тромбоцитов. В течение 3 месяцев сохранялся стойкий эритроцитоз, в связи с чем пациенту дважды выполнялась эксфузия крови.

Для исключения вторичных причин эритроцитоза пациент обследован пульмонологом и нефрологом; патологии дыхательной и мочевыделительной систем не выявлено.

По результатам полноэкзомного секвенирования в гене *EPOR* (NM_000121.4) обнаружена ранее неописанная гетерозиготная делеция с.1300delC, приводящая к сдвигу рамки считывания и преждевременному стоп-кодону (p.Gln434SerfsTer19). Согласно данным Germline Variant Classification (Varsome) вариант классифицирован как вероятно патогенный. По данным ресурса gnomAD Genomes (v2.1), частота встречаемости данного варианта в популяциях отсутствует.

Выявленный вариант локализуется в области цитоплазматического домена рецептора эритропоэтина, являющейся ключевой зоной регуляции сигнального пути. Большинство патогенных вариантов в гене *EPOR* представляют собой транкатирующие варианты в этой области, приводящие к укорочению С-концевого участка белка [3]. Обнаруженный нами вариант (p.Gln434SerfsTer19) затрагивает ту же функционально значимую область, что и ранее описанные патогенные варианты p.Pro431Valfs19, p.Pro449Hisfs4 и p.Trp439*, влияющие на участки, ответственные за негативную регуляцию сигнального пути и ассоциированные с первичной семейной полицитемией [2]. Это позволяет рассматривать данный участок как «горячую точку» в гене *EPOR*. Механизм патогенеза при таких вариантах связан с утратой тирозиновых остатков в С-концевом домене рецептора, необходимых для связывания белков негативной регуляции (SHP-1, SOCS). В результате происходит пролонгированная активация JAK2/STAT-сигнального пути и гиперчувствительность эритроидных клеток к эритропоэтину [4].

Клинически *EPOR*-ассоциированная полицитемия характеризуется изолированным эритроцитозом, нормальными показателями других ростков кроветворения и, как правило, сниженным уровнем эритропоэтина. Заболевание наследуется по аутосомно-доминантному типу и может имитировать истинную полицитемию, однако отличается отсутствием клонального миелопролиферативного процесса [2]. По данным литературы, варианты в гене *EPOR* выявляются приблизительно у 12-15% пациентов с JAK2-негативным эритроцитозом [3]. Это подчеркивает важность применения полноэкзомного секвенирования в диагностике подобных состояний.

В представленном случае отсутствие клинически-значимых вариантов в гене *JAK2*, нормальные показатели других ростков кроветворения и выявление транскатирующего варианта в гене *EPOR* позволяют установить диагноз первичной семейной/врожденной полицитемии.

Выводы. У пациента с *JAK2*-негативным эритроцитозом выявлен ранее неописанный вариант с.1300delC в гене *EPOR*, приводящий к сдвигу рамки считывания и укорочению цитоплазматического домена рецептора. Данный вариант подтверждает ключевую роль нарушения механизмов негативной регуляции сигнального пути в патогенезе первичной семейной полицитемии и расширяет спектр известных патогенных изменений гена *EPOR*. Полноэкзомное секвенирование демонстрирует свою эффективность при диагностике *JAK2*-негативного эритроцитоза и может быть рекомендовано для точной диагностики и дифференциального ведения таких пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Whole exome sequencing reveals novel variants in unexplained erythrocytosis / H. Khurana, B. Muthusamy, U. Yanamandra [et al.] // OMICS. – 2023. – Vol. 27, № 7. – P. 299-304. – DOI: 10.1089/omi.2023.0059.
2. Identification of two novel EPOR gene variants in primary familial polycythemia / L. Lo Riso, G. Vargas-Parra, G. Navarro [et al.] // Genes. – 2022. – Vol. 13, № 10. – P. 1686. – DOI: 10.3390/genes13101686.
3. de la Chapelle, A. Truncated erythropoietin receptor causes familial polycythemia / A. de la Chapelle, A. L. Traskelin, E. Juvonen // Proc Natl Acad Sci USA. – 1993. – Vol. 90, № 10. – P. 4495-4499.
4. Congenital erythrocytosis and hereditary thrombocytosis / C. Bento, M.F. McMullin, B. Gardie [et al.] // COST (European Cooperation in Science and Technology). – Brussels, Belgium, 2015.

ТРУДНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ АНЕМИИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ХОЛОДОВОЙ АУТОИММУННОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ В ДЕБЮТЕ: КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Дружинина Т.А.¹, Горькова Г.В.^{1,2}, Левашова О.А.¹, Сысоева А.С.¹

¹ Пензенский институт усовершенствования врачей, Пенза

² Саратовский областной клинический госпиталь для ветеранов войн,
Саратов, Российская Федерация

Актуальность. Аутоиммунные гемолитические анемии (АИГА) относятся к редким гетерогенным заболеваниям, в отличие от анемий другой этиологии. При этом диагностика АИГА с холодовыми агглютинидами на начальных этапах заболевания в ряде случаев затруднена вследствие невыраженности гемолитического и преобладания симптоматики гипоксического синдромов [1].