

На правах рукописи

ХАЧИРОВА ЛЮДМИЛА СЕРГЕЕВНА

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ИММУННЫХ
НАРУШЕНИЙ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2020

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России и ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Барычева Людмила Юрьевна

Официальные оппоненты:

Нестерова Ирина Вадимовна – доктор медицинских наук, профессор, ФГАО ВО «Российский университет дружбы народов», факультет непрерывного медицинского образования Медицинского института, профессор кафедры иммунологии и аллергологии;

Мешкова Раиса Яковлевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Защита диссертации состоится «15» сентября 2020 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.08 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации: <http://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан " ____ " _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор



Калюжин Олег Витальевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой группу наследственных заболеваний, вызванных моногенными иммунными дефектами, предрасполагающими к развитию у пациентов серьезных инфекций, а также неинфекционных процессов, связанных с нарушением иммунной регуляции – лимфопролиферативных и аутоиммунных (Picard C. et al., 2018, Mahlaoui N. et al., 2017, Modell V., 2018). Ведущие специалисты в области первичных иммунодефицитов считают, что эти заболевания часто остаются нераспознанными, отсроченная диагностика и лечение распространены во всем мире (Sullivan K.E. et al., 2014, Modell V., 2018, Щербина А.Ю., 2016, Корсунский И.А., Продеус А.П. и др., 2019). В связи с низкой настороженностью по отношению к врожденным иммунодефицитам в России отмечаются неоправданно высокие инвалидизация и смертность больных ПИД (Мухина А.А. и др., 2019, Кузьменко Н.Б., 2017, Тузанкина И.А. и др., 2018), в то время как своевременная диагностика и ранняя терапия предотвращают развитие тяжелых и необратимых изменений, позволяют существенно улучшить качество жизни и прогноз пациентов, изменить отношение к ПИД как к безнадежным и неизлечимым заболеваниям (Pai S.Y. et al, 2014, van der Spek. J. et al., 2014, Kwan A., Puck J.M., 2015).

Распространенность первичных иммунодефицитов является одним из ключевых эпидемиологических показателей, поскольку позволяет прогнозировать частоту их возникновения и формировать оптимальную политику общественного здравоохранения в отношении их лечения и профилактики на региональном, национальном и международном уровнях (Mahlaoui N. et al., 2017, Seidel M.G. et al., 2019, Мухина А.А. и др., 2019).

Чрезвычайно важным на современном этапе является использование скрининговых маркеров, позволяющих верифицировать ПИД на доклиническом и этапах раннего диагностического поиска (Kwan A., Puck J.M., 2015, Корсунский И.А., Продеус А.П. и др., 2019, Гордукова М.А. и др., 2015). В течение последнего десятилетия в практику здравоохранения многих стран активно внедряется определение универсальных маркеров Т-клеточных иммунодефицитов – TREC (T-cell receptor excision circle) и В-клеточных – KREC (kappa-deleting recombination excision circle) для скрининга ПИД (Тузанкина И.А. и др., 2018, Blom Maartje et al., 2018, Kwan A., Puck J.M., 2015, Barbaro M et al., 2017, Mauracher A.A. et al., 2017). Доказана эффективность анализа TREC для верификации тяжелого комбинированного иммунодефицита (Kwan A., Puck J.M., 2015, Mauracher A.A. et al., 2017, Ding Y. et al., 2016), комбинированных иммунных нарушений без идентифицируемой молекулярной причины (Vogel B.H. et al., 2014, Kwan A., Puck J.M., 2015), синдромальных ИДС (Kwan A., Puck J.M., 2015, Borte S. et al., 2014, Dar N. et al., 2015). Уста-

новлена эффективность определения KREC для диагностики врожденных агаммаглобулинемий (Barbaro M. et al., 2017, King J.R. et al., 2018). В ряде исследований показана экономическая целесообразность неонатального скрининга ПИД (Modell V et al., 2014, Gaspar H.B. et al., 2014, Корсунский И.А. и др., 2018).

Несмотря на очевидную значимость проблемы, в большинстве регионов России отсутствуют масштабные исследования по эпидемиологии ПИД. Не внедрено определение TREC и KREC в неонатальный скрининг и рутинную практику врачей-педиатров и иммунологов-аллергологов Российской Федерации.

Степень разработанности темы исследования. На основании национальных или континентальных регистров предполагаемая минимальная распространенность ПИД варьирует от 1,5 до 18,8 на 100 000 жителей, что во многом определяется уровнем развития медицины и социально-экономическими возможностями государства (Kindle G., Gathmann B., Grimbacher B., 2014, Mahlaoui N. et al., 2017). В Российской Федерации показатели существенно ниже и составляют 1,35 на 100 000 населения (Мухина А.А. и др., 2019).

Этнические и географические различия могут существенно влиять на частоту и структуру ПИД, поэтому региональные эпидемиологические данные представляют значительный интерес (Babaie D. et al., 2017, Guaní-Guerra E. et al., 2013, Ramirez-Vargas N. et al., 2014). Настоящее исследование является первой работой, посвященной эпидемиологии ПИД в Ставропольском крае. Подобные исследования отсутствуют также в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах Российской Федерации.

Задержка в диагностике и лечении ПИД остается очевидной проблемой не только для развивающихся, но и для развитых стран мира (Babaie D. et al., 2017, Guaní-Guerra E. et al., 2013, Ramirez-Vargas N. et al., 2014). По данным российского регистра ПИД, созданного в 2017 г. под эгидой НАЭПИД, медиана отсрочки диагноза в России составляет 27 месяцев (Мухина А.А. и др., 2019). В Ставропольском крае показатели распространенности ПИД и диагностической задержки не определены, что затрудняет формирование политики Министерства здравоохранения края в отношении этой категории больных.

Целесообразность определения эксцизионных колец реаранжировки генов T- и В-клеточных рецепторов для неонатального скрининга первичных иммунодефицитов признана во всем мире (Blom Maartje et al., 2018, Kwan A., Puck J.M., 2015, Mauracher A.A. et al., 2017, Barbaro M. et al., 2017). В отдельных регионах Российской Федерации (Московская и Свердловская области) проводились массовые исследования, свидетельствующие об эффективности определения TREC и KREC для неонатального скрининга и ретроспективного выявления ПИД как причины ранней детской смертности (Корсунский И.А. и др., 2017, Корсунский И.А., Дерябина С.С. и др., 2017, Korsunskiy I. et al., 2019, Продеус А.П.

и др., 2019). Однако определение TREC и KREC в рутинной практике педиатров и иммунологов-аллергологов внедрено далеко не во всех регионах РФ.

Цель исследования: характеристика эпидемиологической картины врожденных иммунных нарушений на основании ретроспективного исследования первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае за десятилетний период (2009-2019 гг).

Задачи исследования

1. Изучить распространенность, возрастные и гендерные особенности, структуру нозологических форм и частоту молекулярно-генетического подтверждения диагноза в регистре первичных иммунодефицитов Ставропольского края.

2. Определить сроки диагностической задержки у больных с врожденными иммунными нарушениями на примере Ставропольского края.

3. Установить частоту развития инфекций, онкологических заболеваний, а также клинических проявлений иммунной дисрегуляции у пациентов с первичными иммунодефицитами в регистре Ставропольского края.

4. Оценить объем иммунореконструктивной, генноинженерной, заместительной и профилактической антимикробной терапии у больных с врожденными иммунными нарушениями в Ставропольском крае.

5. Провести ретроспективный сравнительный анализ эксцизионных колец реаранжировки генов Т-клеточного рецептора (TREC) и рекомбинационных колец каппа-делеционного элемента (KREC) в сухих пятнах крови у умерших детей в зависимости от морфологии тимуса, степени доношенности, наличия врожденных пороков развития.

6. Оценить эффективность определения эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов для диагностики врожденных иммунных нарушений в рутинной практике врача аллерголога-иммунолога.

Научная новизна исследования. Впервые проведено эпидемиологическое исследование врожденных иммунных нарушений в Ставропольском крае. Установлена минимальная распространенность первичных иммунодефицитов, составившая 3,1:100 000 населения. Впервые изучены возрастные и гендерные особенности в когорте живых пациентов, страдающих ПИД, выявлено преобладание детей (74,7%) и лиц мужского пола (1:2,03).

Впервые изучена структура нозологических форм ПИД в регистре СК. Показано, что наиболее распространенными являются дефекты гуморального звена (44,3%), второе место занимают комбинированные иммунные нарушения с синдромальными проявлениями (15,9%), третье – дефекты фагоцитоза (10,2%). Показано, что в когорте первичных им-

мунодефицитов Ставропольского края имеется 27 нозологических форм ПИД, молекулярно-генетический диагноз подтвержден у 38,6% больных.

Впервые определены сроки задержки в постановке диагноза ПИД у пациентов Ставропольского края, достигающие 2,9 года. Впервые изучен характер коморбидной патологии у пациентов в регистре СК, выявлено преобладание инфекций (73,9%). Признаки иммунной дисрегуляции составили 18,1%, рецидивирующие «холодные» отеки – 8%, онкологические заболевания – 4,5%. Впервые проведена оценка объема иммунореконструктивной, генноинженерной, заместительной и профилактической антимикробной терапии у пациентов в регистре СК, установлено количество случаев с летальным исходом – 6,8%.

Впервые проведено ретроспективное определение количества эксцизионных колец реаранжировки генов T- и B-клеточных рецепторов в сухих пятнах крови в когорте умерших детей с фатальными инфекциями в СК. Установлено, что в 69,5% случаев определяется снижение показателей TREC и/или KREC в сухих пятнах крови неонатального скрининга. У 11,6% умерших детей имеет место значительное снижение TREC и/или KREC до недетектируемых значений, что подтверждается клиническими и патоморфологическими признаками врожденных ИДС. Показано, что развитие акцидентальной инволюции тимуса не связано с показателями TREC и KREC у новорожденных. Выявлено, что снижение уровня TREC наблюдается у недоношенных детей со сроками гестации менее 28 недель, а также в группе пациентов с врожденными пороками сердца и магистральных сосудов, желудочно-кишечного тракта, почек и мочевыделительных путей, болезнью Дауна.

Теоретическая и практическая значимость исследования. В процессе выполнения диссертационного исследования был создан регистр первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае. Определение эпидемиологической картины врожденных иммунных нарушений имеет значение для формирования представлений о распространенности этих редких заболеваний в Ставропольском крае, их возрастной и гендерной характеристике, структуре нозологических форм ПИД, возможностях молекулярно-генетического подтверждения диагноза.

Полученные в исследовании данные свидетельствуют о гиподиагностике первичных ИДС в СК и существенной отсрочке в постановке диагноза, достигающей 2,9 года, что является теоретической базой для создания образовательных программ, способствующих формированию настороженности в отношении первичных иммунодефицитов с целью их ранней диагностики и маршрутизации пациентов в отделения иммунологического профиля федеральных учреждений.

Представленные в работе данные свидетельствуют о недостаточном объеме заместительной терапии внутривенными иммуноглобулинами у пациентов в регистре СК

(73,9% от количества нуждающихся) и могут использоваться для планирования лечебных мероприятий Министерством здравоохранения СК в отношении этой категории больных. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что ретроспективное определение TREC и KREC в сухих пятнах неонатального скрининга позволяет идентифицировать нозологические синдромы отдельных ПИД как причины ранней детской смертности.

Выявленные в ходе исследования предварительные данные открывают дополнительные возможности для использования TREC и KREC в качестве факторов неблагоприятного исхода у больных с тяжелыми инфекциями неонатального периода (неонатальный сепсис, менингит, пневмония), а также при назначении заместительной терапии внутривенными иммуноглобулинами у недоношенных детей и пациентов с врожденными пороками развития. Представленные в работе сведения позволяют рекомендовать определение TREC и KREC у детей сстораживающими признаками в качестве эффективного и недорогого метода для выявления первичных ИДС на ранних этапах диагностического поиска. Результаты диссертационной работы свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований по изучению врожденных иммунных нарушений в СК и могут являться теоретической предпосылкой для формирования региональных и федеральных программ по внедрению скрининговой диагностики этих тяжелых заболеваний и их ранней терапии с целью увеличения выживаемости и улучшения качества жизни этих больных.

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование выполнено в дизайне ретроспективного когортного продольного обсервационного исследования и обзора случаев с применением клинических, инструментальных, микробиологических, иммуноферментных, молекулярно-генетических и статистических методов.

Объект исследования – пациенты с врожденными иммунными нарушениями, зарегистрированные в реестре первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае и находившиеся на диспансерном учете у аллерголога-иммунолога в консультативной поликлинике краевой детской клинической больницы (ГБУЗ СК «КДКБ»), краевом клиническом консультативно-диагностическом центре (АНМО «СКККДЦ»), городской детской клинической больнице им. Г.К. Филиппского» (ГБУЗ СК «ГДКБ»); новорожденные дети с поздним неонатальным сепсисом, рожденные в Ставропольском краевом клиническом перинатальном центре №1 (ГБУЗ СК «СККПЦ №1»), а также умершие дети с фатальными инфекциями, получавшие лечение в ГБУЗ СК «КДКБ», краевой клинической инфекционной больнице (ГБУЗ СК «КСКИБ»).

Предмет исследования: эпидемиологические показатели у пациентов с врожденными иммунными нарушениями (инцендентность, гендерно-возрастной состав, этниче-

ская принадлежность, структура нозологических форм, объем терапии, смертность); эксцизионные кольца реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов в сухих пятнах крови неонатального скрининга у умерших детей с фатальными инфекциями и у детей с настораживающими признаками первичных ИДС на этапе диагностического поиска.

Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России (протокол № 61 от 18.01.2017.). Клинико-инструментальное и лабораторное исследования детей выполнялись на базе ГБУЗ СК «КДКБ», АНМО «СКККДЦ», ГБУЗ СК «ГДКБ» (Ставрополь), ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России (Москва). Мультиплексный анализ TREC и KREC выполнялся на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» (врач Гордукова М.А.) и в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (зав. отделением, к.м.н. Райкина Е.В.).

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Минимальная распространенность первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае составляет 3,1:100 000 населения. В регистре первичных иммунодефицитов СК преобладают дефекты гуморального звена (44,3%), второе место занимают комбинированные иммунные нарушения с синдромальными проявлениями (15,9%), третье – дефекты фагоцитоза (10,2%).

2. Инфекционные заболевания развиваются у 73,9% пациентов с ПИД, симптомы иммунной дисрегуляции – у 18,1%, онкологические заболевания – у 4,5%; наследственный ангиоотек диагностируется у 8%. Задержка в постановке диагноза ПИД составляет 2,9 (0; 51) года.

3. У 11,6% умерших детей с фатальными инфекциями при ретроспективном исследовании определяются молекулярно-генетические признаки врожденных ИДС, что подтверждается клиническими и патоморфологическими данными.

4. Определение TREC и KREC методом мультиплексного анализа у детей с настораживающими признаками первичных иммунодефицитов является эффективным методом и рекомендуется для выявления первичных ИДС на ранних этапах диагностического поиска.

Степень достоверности. Достоверность результатов диссертационного исследования обоснована применением принципов, технологий и методов доказательной медицины, достаточным объемом и репрезентативностью выборки пациентов, использованием ре-

гламентированных клинических, лабораторных, молекулярно-генетических и адекватных методов статистической обработки полученных данных. Выводы и практические рекомендации хорошо аргументированы, сформулированы корректно и логически вытекают из результатов диссертационного исследования.

Практическое использование результатов исследования. Результаты работы внедрены в практику лечебной работы отделений ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница», ГБУЗ СК «Городская детская клиническая больница им. Г.К. Филиппского» (Ставрополь). Результаты диссертационного исследования включены в лекционный курс образовательной программы подготовки кадров циклов повышения квалификации и профессиональной переподготовки по специальностям «Аллергология-иммунология» ДПО ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет». Результаты настоящего исследования используются в учебном процессе на кафедре иммунологии с курсом ДПО, в лекционных курсах и на практических занятиях со студентами педиатрического и лечебного факультетов.

Публикации и апробация работы. По материалам диссертации опубликовано 12 работ, 5 из них опубликованы в журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 154 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных наблюдений – эпидемиологической характеристики пациентов с первичными иммунодефицитами и нарушениями иммунной регуляции, результатов мультиплексного анализа TREC и KREC у умерших детей и детей с нарастающими признаками ИДС, обсуждения полученных результатов; выводов, практических рекомендаций и библиографического списка. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 17 рисунками. Список литературы содержит 234 источника, в том числе отечественных – 65, иностранных – 169.

Работа выполнена на кафедре иммунологии с курсом ДПО в соответствии с планом НИР ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Для создания регистра ПИД была собрана информация в 35 административных округах Ставропольского края обо всех пациентах с

ПИД, установленных в течение 10 лет (2009-2019 гг.). Регистрация больных с первичными иммунодефицитами осуществлялась на кафедре иммунологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета. Диагноз ПИД устанавливался в соответствии с диагностическими критериями Европейского общества иммунодефицитов (ESID) (Kindle G., Gathmann B., Grimbacher B. 2014). Исследование иммунного статуса выполнялось в отделении лабораторной диагностики АНМО «СКККДЦ» (Ставрополь) и включало иммунофенотипирование лимфоцитов с использованием одно- и двухпараметрических реагентов линии IQTest: CD19-PC5, HLA-DR-PC5, CD3-FITC/CD4-PE, CD8-PC5, CD3-FITC/CD (16+56)-PE, CD45-ECD (Beckman Coulter, США) на лазерном проточном цитометре Cytomicx FC 500 (Beckman Coulter, США), определение сывороточных иммуноглобулинов – IgA, IgG, IgM методом количественной иммунотурбодиметрии на биохимическом анализаторе AU 680 (Beckman Coulter, США), а также тест восстановления нитросинего тетразолия (NBT-тест).

Молекулярно-генетическое исследование проводилось на этапе уточнения диагноза методом прямого секвенирования кодирующих областей генов по Сенгеру или полногеномного секвенирования нового поколения (NGS) («панель иммунологическая») в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Большая часть пациентов (65,9%), внесенных в регистр, прошло обследование на базе федеральных центров – «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» или РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. В 2018-2019 гг. сведения о пациентах с ПИД в СК интегрированы в электронный регистр Российской Федерации. При анализе данных осуществляли оценку распространенности групп врожденных иммунных нарушений в соответствии с классификацией Международного союза иммунологических обществ – IUIS (Yu J.E., Orange J.S., Demirdag Y.Y., 2019), а также отдельных нозологических форм ПИД с учетом результатов их молекулярно-генетического исследования. Проводили изучение гендерного состава пациентов, возраста появления первых симптомов, а также времени, затраченного на постановку диагноза. Сроки задержки постановки диагноза вычисляли как разницу между датой манифестации заболевания и датой верификации диагноза.

На 2 этапе проведено ретроспективное исследование архивных тест-бланков сухих пятен крови 49 умерших детей. Кровь была взята на фильтровальные карты 903 Wallac Russia CE Card (GE Healthcare Bio-Sciences Corp, USA) для осуществления неонатального скрининга новорожденных. Архивные тест-бланки хранились в лаборатории неонатального скрининга ГБУЗ СК «СККПЦ №1». Для исследования были отобраны сухие пятна крови детей с тяжелыми инфекционными заболеваниями, подтвержденными в клиническом и

патоморфологическом диагнозе в качестве основной причины летального исхода. При клинической и патоморфологической оценках умерших детей использован архивный материал ГБУЗ СК «КДКБ», ГБУЗ СК «КСКИБ», а также прозекутуры ГБУЗ СК «СККБ», Ставрополь и кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «СтГМУ».

Исследование эксцизионных колец реаранжировки Т- и В-клеточных рецепторов проводилось в клинко-диагностической лаборатории ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» (Москва). При определении TREC и KREC использовалась мультиплексная тест-система T&V Test, разработанная в ИХБФМ СО РАН (Новосибирск) и Новосибирском государственном университете совместно с ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» (Гордукова М.А. и др., 2015). В ходе определения TREC и KREC 6 детей были исключены из исследования в связи с плохой амплификацией ДНК. В результате проанализированы данные 43 умерших детей (27 мальчиков и 16 девочек).

В 20,9% случаев при жизни и на секции верифицированы тяжелые пневмонии, в 39,5% – сепсис, в 4,7% – гнойный менингоэнцефалит, в 30,2% – генерализованная форма вирусной инфекции, в 4,7% – язвенно-некротический энтероколит. Летальный исход у 34,9% детей наступил на 1-м месяце жизни, у 37,2% – в возрасте 1-3 мес., у 11,6% – в 3-6 мес., у 11,6% – в 6-12 мес., у 4,7% – в 1-3 года. Недоношенные дети составили 65,1%, в том числе 21,4% – с крайней степенью недоношенности и сроком гестации менее 28 недель, 32,1% родились от ранних преждевременных родов (28-32 недели), 17,9% – от преждевременных родов (32-34 недели), 28,6% – от поздних преждевременных родов (34-37 недель). Врожденные пороки развития верифицированы у 19 (44,2%) детей, в структуре которых верифицировались пороки сердца и магистральных сосудов (23,3%), пороки развития желудочно-кишечного тракта – атрезии пищевода и кишечника (7,0%), аномалии мочевыделительной и половой систем (2,3%), пороки развития бронхов и легких (7%), ЦНС (7%), а также синдромы Диджорджи (2,3%), Эдвардса (2,3%), Грисцелли 2 (2,3%), болезнь Дауна (2,3%).

При патоморфологическом исследовании вилочковой железы и лимфатических узлов прослеживались явления приобретенного угнетения иммуногенеза в виде акцидентальной инволюции тимуса (АИ) III-V стадий (34 пациента), а также врожденной гипоплазии тимуса (4 пациента) и несвоевременного жирового метаморфоза вилочковой железы (1 пациент), реже обнаруживались признаки активации иммуногенеза с развитием акцидентальной инволюции тимуса I-II стадий (4 пациента). Определение TREC и KREC осуществлялось у детей, имеющих морфологические признаки угнетения иммуногенеза – врожденного иммунодефицита (5 пятен), акцидентальной инволюции тимуса (34 пятна), в

том числе АИ III (7 пятен), АИ IV (10 пятен), АИ V (17 пятен), а также в зависимости от степени доношенности и наличия врожденных пороков развития (ВПР).

Для определения эффективности метода эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов как скринингового теста для практикующего иммунолога в работе проведен анализ результатов TREC и KREC у 15 пациентов с настораживающими признаками врожденных ИДС; 7 детей были отобраны врачом-иммунологом на этапе диагностического поиска среди больных, госпитализированных в ГБУЗ СК «КДКБ» (Ставрополь), 8 детей с поздним неонатальным сепсисом обследованы врачом-неонатологом в рамках пилотного проекта на базе ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический перинатальный центр №1». Исследование TREC и KREC проводилось на базе клинικο-диагностической лаборатории ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» (Москва) и в лаборатории ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва). Иммунофенотипирование клеток крови осуществлялось в отделении клинической лабораторной диагностики АНМО «СКККДЦ».

Статистический анализ данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ «Primer of Biostat 4,0», «Attestat 10.5.1.», Statistica 7.0 for Windows. Количественные значения представляли в виде: медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1-Q)) или в виде медианы (минимальное; максимальное значение). Статистическую значимость различий качественных признаков оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для оценки межгрупповых различий количественных признаков применяли однофакторный дисперсионный анализ, критерии Крускала-Уоллиса, Ньюмена-Кейлса, Данна. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Дизайн исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В период с 2009 г. по июль 2019 г. в Ставропольском крае зарегистрировано 88 пациентов с врожденными ошибками иммунитета. На момент анализа (июль 2019 г.) живы 79 (87,4%) пациентов, 6 (6,8%) умерли, 3 (3,4%) потеряны для наблюдения и их жизненный статус невозможно оценить. Минимальная распространенность ПИД была рассчитана как 3,1:100 000 населения, что превышает показатели в среднем по РФ, а также во многих областях РФ (Мухина А.А. и др., 2019), однако существенно меньше, чем в европейских странах (Mahlaoui N. et al., 2017, Seidel M.G. et al., 2019). Соотношение пациентов мужского и женского пола в регистре Ставропольского края составило 1:2,03, что согласуется с данными регистра РФ (1:1,5) (Мухина А.А. и др., 2019) и большинства регистров мира (Seidel M.G. et al., 2019) и, вероятно, связано с преобладанием Х-сцепленного характера наследования отдельных нозологических форм ПИД.

Демография. В когорте живых пациентов с ПИД в СК на момент исследования преобладают дети – 59 (74,7%). На долю детей первого года жизни приходится 1 (1,3%) пациент, от года до 5 лет – 11 (13,9%), от 5 до 10 лет – 26 (32,9%), от 10 до 18 лет – 21 (26,6%). В группу взрослых пациентов входит 20 (25,3%) человек. Медиана возраста пациентов регистра СК составляет 10 (5,4; 17) лет. Самому младшему пациенту на момент анализа оказалось 3 месяца, самому старшему – 74 года. Восемь больных в группе взрослых (40%) – повзрослевшие пациенты, диагноз которым был поставлен еще в детстве. Медиана возраста педиатрической когорты регистра – 7 (5; 11,2) лет, взрослых пациентов – 26 (20,7; 42,5) лет. Полученные нами данные практически совпадают с данными российского регистра, на долю взрослых в котором приходится – 70,3% (Мухина А.А. и др., 2019), в то время как в регистрах развитых стран мира нередко преобладают взрослые.

Основные группы ПИД в регистре СК представлены 27-ю нозологическими формами (табл. 1). Наиболее частыми являются дефекты гуморального звена иммунитета, составившие 44,3% (39), на втором месте по распространенности оказались комбинированные иммунные нарушения с синдромальными проявлениями – 15,9% (14), на третьем – нарушения фагоцитоза – 10,2% (9), на четвертом – аутовоспалительные заболевания и дефекты системы комплемента, представленные в равных долях – 8% (7), на пятом – комбинированные ИДС (ТКИД/КИД) и нарушения иммунной регуляции, составившие 6,8 (7) и 4,5% (4) соответственно. На долю неуточненных ПИД приходится 2,3% (2).

Таблица 1 – Распределение первичных иммунодефицитов в когортах детей и взрослых в регистре СК (июль 2019 г)

группа по МСИО	категория ПИД	Всего (n=88)	Живые пациенты с известным жизненным статусом (n=79)	
			< 18 лет (n=59)	≥18 лет (n=20)
I	Дефекты клеточного и гуморального звеньев иммунитета (SCID/CID)	6	4	
	T-B+SCID	3	1	
	T-B-SCID	2	2	
	Комбинированный ИДС неуточненный (CID)	1	1	
II	Комбинированные иммунодефициты, ассоциированные с синдромальными проявлениями	14	10	
	Синдром Вискотта-Олдрича (Wiskott-Aldrich)	3	3	
	Синдром Луи-Бар (атаксия-телеангиэктазия)	7	4	
	Синдром Неймегеновского повреждения (Nijmegen)	1	-	
	Гипер-IgE-синдром (HIES)	1	1	
	Ангидротическая эктодермальная дисплазия (EPIDA-ID)	1	1	
	Синдром ДиДжорджи	1	1	

III	Преимущественно гуморальные дефекты	39	26	12
	X-сцепленная агаммаглобулинемия (XLA)	1	1	
	Общая вариабельная иммунная недостаточность (ОВИН)	4	-	4
	Гипер-IgM-синдром неуточненный	3	2	
	Дефицит изолированного подкласса IgG	1	1	
	Недифференцированная гипоиμмуноглобулинемия	2	-	2
	Селективный дефицит IgA (SDIgA)	28	22	6
IV	ПИД с иммунной дисрегуляцией	4	3	
	1.Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз с гипопигментацией (FHL):			
	Синдром Грисцелли 2-го типа (Griscelli)	1	1	
	Синдром Германского-Пудлака 4 типа (Hermansky-Pudlak)	1	1	
	2.Аутоиммунные состояния с или без лимфопролиферации	1	-	
	APCED (APS-1)	1	1	
	3.Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром неуточненный			
V	Количественные и качественные дефекты фагоцитов	9	8	
	Врожденные нейтропении:			
	Дефицит эластазы (SCN1)	1	1	
	Циклическая нейтропения (болезнь Костмана)	1	-	
	Дефекты адгезии лейкоцитов:			
	Синдром Швахмана-Даймонда (Schwachman-Diamond)	1	1	
	Дефекты респираторного взрыва:			
	X-сцепленная ХГБ	5	5	
VI	Аутосомно-рецессивная ХГБ	1	1	
	Дефекты врожденного иммунитета	-		
VII	Аутовоспалительные заболевания	7	6	1
	Семейная средиземноморская лихорадка	3	3	
	Синдром CINCA (хронический инфантильный неврологический кожно-суставной синдром) (NLRP3 GoF)	1	1	
	Синдром Мак-Уэллса (Muckle-Wells)	1	-	1
	Синдром Маршалла (PFAFA)	2	2	
VIII	Дефекты системы комплемента	7		7
	Дефекты регуляции системы комплемента			
	Дефицит ингибитора C1	7		7
IX	Фенокопии, вызванные соматическими мутациями	-		
	Криопиринопатия (NLRP3)			
	Неуточненный ПИД	2	2	

Наиболее частыми являются дефекты гуморального звена иммунитета, составившие 44,3% (39), на втором месте по распространенности оказались комбинированные иммунные нарушения с синдромальными проявлениями – 15,9% (14), на третьем – нарушения фагоцитоза – 10,2% (9), на четвертом – аутовоспалительные заболевания и дефекты системы комплемента, представленные в равных долях – 8% (7), на пятом – комбинированные ИДС (ТКИД/КИД) и нарушения иммунной регуляции, составившие 6,8 (7) и 4,5% (4) соответственно. На долю неуточненных ПИД приходится 2,3% (2).

В структуре ПИД СК по сравнению с регистром РФ чаще встречаются дефекты антителообразования (44,3 и 28%, $p < 0,001$), различий по сравнению с регистром ESID установлено не было. В регистре СК отсутствуют пациенты с дефектами врожденного иммунитета (группа VI) и фенотипами, обусловленными соматическими мутациями (группа IX). Эти группы совсем недавно внесены в классификацию ПИД, поэтому их диагностика только налаживается.

Наиболее частой нозологической формой в регистре СК является селективный дефицит иммуноглобулина А – 28 (31,8%) (табл. 1). Среди тяжелых форм ИДС преобладают синдром Луи-Бар – 7 (8%), хроническая гранулематозная болезнь – 6 (6,8%), наследственный ангионевротический отек – 7 (8%), менее распространены ОВИН – 4 (4,5%), синдром Вискотта-Олдрича – 3 (3,4%), семейная средиземноморская лихорадка – 3 (3,4%), гипер-IgM-синдром – 3 (3,4%).

В структуре ПИД с иммунной дисрегуляцией диагностированы два редких случая гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза с гипопигментацией (синдромы Грисцелли 2 типа и Германски-Пудлака). Среди комбинированных ИДС установлены Т-В+SCID – дефект IL2RG (2 случая), дефицит JAK 3, Т-В-SCID – дефицит аденозиндезаминазы, ДНК-лигазы 4. У одного пациента с комбинированным ИДС генетическую причину не удалось установить. Синдромы ДиДжорджи (1,1%), Неймегеновского повреждения (1,1%), Х-сцепленная агаммаглобулинемия (1,1%), часто встречающиеся в большинстве регистров мира, (Sullivan K. E. et al., 2014, Shillito B. et al., 2018, Grimbacher, B., 2014), представлены единичными случаями, что может быть связано с низкой настороженностью врачей в отношении этих нозологических форм или отсутствием очевидных инфекционных эпизодов при синдроме ДиДжорджи.

У 20 взрослых пациентов верифицированы дефекты гуморального звена и системы комплемента. Среди 8 взрослых с установленным диагнозом еще в детстве 6 – с дефектами гуморального звена, в том числе с ОВИН (2), неуточненной гипои иммуноглобулинемией (1), селективным дефицитом IgA (3), по одному – с наследственным ангионевротическим отеком и синдромом Мак-Веллса.

Ранняя детская смертность мальчиков прослеживается в семейном анамнезе 4-х детей, в том числе с синдромом Вискотта-Олдрича (1), хронической гранулематозной болезнью (2), синдромом Грисцелли 2 (1). Близкородственный брак (мать и отец двоюродные брат и сестра) удалось уточнить в двух семьях.

Задержка постановки диагноза. Медиана возраста появления симптомов у пациентов с ПИД в регистре СК составила 2 (0,28; 8,5) года, в том числе в педиатрической когорте – 1,0 (0,16; 2,64) год, во взрослой когорте – 15 (12; 25) лет. У пациентов всех групп

имела место существенная задержка постановки диагноза, которая колебалась от 2-х до 10 месяцев у пациентов с комбинированными иммунодефицитами, от 5 мес. до 3-х лет – у больных с дефектами иммунной регуляции, от 2-х мес. до 3-х лет – при аутовоспалительных заболеваниях, до 10-ти лет – при дефектах фагоцитоза и до 50-ти лет – у взрослых больных с нарушениями в системе комплемента. Медиана задержки постановки диагноза ПИД в СК составила 2,9 (0; 51) года. У детей заболевание диагностировалось быстрее (медиана – 2,6 года), чем у взрослых (медиана – 3,5 лет), $p < 0,001$.

Преобладающими клиническими синдромами у пациентов с ПИД в регистре СК были инфекции (73,9%), реже в дебюте заболевания отмечались признаки иммунной дисрегуляции (18,1%) в виде лихорадки, трехростковой цитопении, гепатоспленомегалии, полисерозита, артрита. У 8% пациентов в клинической картине выявлялись рецидивирующие «холодные» ангиоотеки.

Наиболее распространенными инфекционными осложнениями у пациентов с ПИД были пневмонии (43,2%), в том числе цитомегаловирусные при ТКИД (2), стафилококковые с формированием пневмоцеле и бронхоплеврального свища при гипер-IgE-синдроме (1), затяжные деструктивные, обусловленные ноккардиями, при ХГБ (2), пневмококковые с быстрым формированием цилиндрических бронхоэктазов при ОВИН (4) и гипер-IgM-синдроме (1). К частым инфекциям следует также отнести гнойный средний отит (20,5%), синусит (22,7%), инфекции кожи (21,6%), гнойный лимфаденит (11,4%), афтозный стоматит (6,8%), гастроэнтерит (8%). Гемоколит развился у 4,5% детей, в том числе при синдромах Вискотта-Олдрича (2,3%), Германски-Пудлака (1,1%), хроническом гранулематозе (1,1%). Повторные респираторно-вирусные инфекции отмечались у 39,8% детей, преобладали у пациентов с селективным дефицитом IgA.

Наиболее частыми из неспецифических клинических синдромов были гепатоспленомегалия (29,5%) и неуточненная лихорадка (13,6%), которая наблюдалась практически у всех больных с аутовоспалительными заболеваниями и ПИД с иммунной дисрегуляцией до установления диагноза. Цитопении регистрировались у 21 (23,9%) ребенка. В 12 (13,6%) случаях имела место тяжелая трехростковая цитопения, в том числе у пациентов с ТКИД (2), синдромальными ИДС (3), дефектами иммунной регуляции (3), нарушениями фагоцитоза (4). Злокачественные новообразования составили 4,5% и отмечались при атаксии-телеангиэктазии (2 случая), синдроме Неймегеновского повреждения (1), гипер-IgM-синдроме (1 случай).

Генетическое исследование выполнено у 40 (45,5%) пациентов, молекулярно-генетический диагноз установлен в 38,6% случаев, что составило 85% от числа протестированных. По данным регистра РФ, генетическое подтверждение диагноза имеют 36% де-

тей с ПИД [4]. Трансплантация гемопоэтических клеток (ТГСК) осуществлена у 11,4% детей. При этом трое пациентов на настоящий момент нуждаются в проведении ТГСК. В заместительной терапии препаратами внутривенных иммуноглобулинов из 79 живых пациентов нуждаются 23 (29,1%) человека. Регулярно получают лечение 16 (21,5%) больных. У 5 взрослых больных заместительная терапия проводится нерегулярно. Двое детей не лечатся в связи с отказом родителей. Непрерывная профилактическая противомикробная терапия проводится у 17,7% пациентов. Заместительную терапию ГКСФ (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор) получают 6 (7,6%) больных, препараты С1-ингибитора – 4 (5%), таргетную антицитокиновую терапию – 7 (8,9%), колхицин – 3 (3,8%). В период наблюдения с 2009 г. в Ставропольском крае умерли 6 (6,8%) пациентов, что сопоставимо с регистром РФ – 6% (Мухина А.А. и др., 2019).

На втором этапе исследования проведен анализ ретроспективного определения маркеров Т- (TREC) и В-клеточных (KREC) иммунодефицитов у 43 детей, умерших в раннем возрасте от тяжелых инфекций. В 60,5% случаев определялось снижение показателей эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов, зарегистрированное у 4 из 7 детей с АИ III ст., у 5 из 10 детей – с АИ IV ст., у 7 из 17 – с АИ V ст, а также у всех детей с морфологическими признаками врожденных ИДС. Низкие показатели TREC отмечались в 37,2% случаев, KREC – в 4,6%, TREC и KREC – в 16,6%. Среднее число копий TREC для всех образцов составило $147/10^5$ L [59,1; 345], KREC – $264/10^5$ L [85,1; 624].

Не установлено взаимосвязи показателей TREC и KREC в неонатальном периоде и степени акцидентальной инволюции тимуса, приобретенной на фоне тяжелых инфекций. Полученные данные не противоречат существующим представлениям об АИ тимуса как о приобретенном процессе, возникающем в ответ на антигенное воздействие (в первую очередь инфекционное) и прогрессирующее вплоть до вторичной атрофии вилочковой железы (Ивановская Т.Е. и др., 1986).

Постмортальная диагностика врожденных ИДС ввиду неспецифичности патоморфологических признаков весьма сложна. В группу вероятных врожденных ПИД были отнесены пациенты с несвоевременным жировым метаморфозом вилочковой железы, аплазией тимуса и тотальной лимфопенией с рождения, гипоплазией тимуса, сочетанной с врожденными пороками, характерными для синдромов ДиДжорджи и Эдвардса, а также ребенок из семьи с семейным лимфогистиоцитозом (синдром Грисцелли).

Установлено снижение уровней эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов у всех пациентов с патоморфологическими признаками врожденных ИДС до неопределяемых TREC и KREC при вероятном ТКИД, KREC – при не-

своевременном жировом метаморфозе вилочковой железы. Резкое снижение TREC отмечено у детей с врожденной гипоплазией тимуса в структуре синдромов ДиДжорджи и Эдвардса. Нами выявлено снижение уровня TREC у недоношенных детей – 127,5 [58,4; 372,5] по сравнению с доношенными – 408,5 [185; 869], $p < 0,01$ (рис. 1).

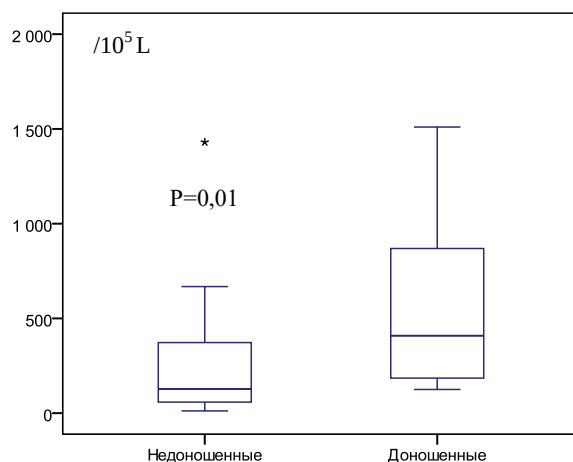


Рисунок 1- Показатели TREC у доношенных и недоношенных детей

Примечание. На диаграмме для каждой группы отображены: медиана, квартильный размах (Q0,25-Q0,75), размах (минимум; максимум) переменной;
p – статистическая значимость различий между группами (критерий Манна-Уитни)

Проведена оценка показателей TREC в зависимости от сроков гестации. Статистически значимое снижение по сравнению с доношенными детьми определялось только в группе глубоконедоношенных детей со сроками гестации до 28 недель (табл. 2).

Таблица 2 – Показатели TREC и KREC у недоношенных детей в зависимости от сроков гестации

Сроки гестации	Mean TREC	Mean KREC
21-27 нед 6 дней (n=9)	59,7 [46,8; 61,1] *	236 [30,4; 256]
28-31 нед. 6 дней (n=9)	183 [80,8; 264,5]	154 [70,4; 162,5]
32-36 нед. 6 дней (n=10)	232,5 [100; 610]	521 [264; 938]
Доношенные дети (n=10)	408,5 [125; 1510]	467,5 [149; 968]

Примечание: * – статистическая значимость различий по сравнению с группой доношенных детей (критерий Ньюмена-Кейлса, критерий Данна)

Установлено снижение показателей TREC у детей с пороками развития, в структуре которых определялись пороки сердца и магистральных сосудов (тетрада и триада Фалло, открытый артериальный проток, стеноз легочной артерии, аорты) (23,3%), желудочно-кишечного тракта (атрезии пищевода и кишечника) (7,0%), anomalies мочевыделительной и половой систем (2,3%), бронхов и легких (7%), ЦНС (7%) (рис. 2).

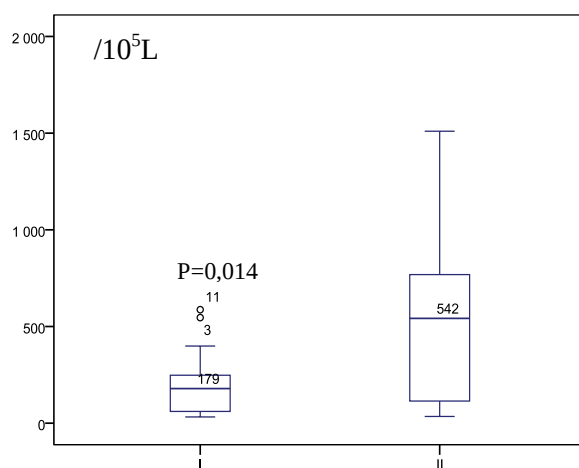


Рисунок 2- Показатели TRECSy детей в зависимости от пороков развития

Примечание. На диаграмме для каждой группы отображены: медиана, квартильный размах (Q0,25-Q0,75), размах (минимум; максимум) переменной, p – статистическая значимость различий между группами (критерий Манна-Уитни); I – умершие дети с ВПР, II – умершие дети без ВПР

Таким образом, ретроспективное определение TREC и KREC в сухих пятнах крови позволяет идентифицировать нозологические синдромы отдельных ПИД как причины ранней детской смертности. У 11,6% умерших детей определяется значительное снижение TREC и/или KREC до не детектируемых значений, что подтверждается клиническими и патоморфологическими признаками врожденных ИДС.

Развитие акцидентальной инволюции тимуса не связано с показателями TREC и KREC у новорожденных. Снижение уровня TREC наблюдается у недоношенных детей со сроками гестации менее 28 недель, а также в группе пациентов с врожденными пороками развития. Определение TREC является эффективным инструментом не только для диагностики врожденных ИДС, но и для выявления других Т-клеточных лимфопений, связанных с недоношенностью, наличием пороков развития, наследственных заболеваний (болезнь Дауна, синдром Эдвардса) и требующих профилактических мероприятий, направленных на предотвращение фатальных инфекций.

Для оценки эффективности определения TREC и KREC в практике врача аллерголога-иммунолога в работе проведен анализ результатов эксцизионных колец у 7 пациентов с настораживающими ПИДС, госпитализированных в ГБУЗ СК «КДКБ» (табл. 3).

В структуре рабочих диагнозов были «ТКИД», «Гипогаммаглобулинемия», «Синдром Луи-Бар», «Гипер-IgE-синдром», «Комбинированный иммунодефицит», «Первичный иммунодефицит с нарушением пигментного обмена».

Таблица 3 – Общая характеристика и показатели иммунного статуса у пациентов с нарастающими признаками ПИД

		Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4	Пациент 5	Пациент 6	Пациент 7
Пол		мужской	Мужской	мужской	женский	мужской	женский	женский
Сроки гестации		39 недель	40 недель	39 недель	39 недель	39 недель	40 недель	39 недель
Случаи в семье		отсутствуют	отсутствуют	родной брат	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют
Настораж. признаки ПИД		более 2	более 2	более 2	более 2	более 2	более 2	более 2
Диагностическая гипотеза		ТКИД	Гипогамма-глобулинемия	ПИД с нарушением пигментного обмена	КИД	Синдром Луи-Бар	Гипер-IgE синдром	APCED
TREC (копий/10 ⁵ лейкоцитов)	Результат	0	630	1100	0	0	1020	260
	Возрастная норма*	более 600	470-4100	1200-11000	1200-11000	14000-320000	1300-14000	470-4100
KREC (копий/10 ⁵ лейкоцитов)	Результат	2610	54	3600	0	12100	1702	130
	Возрастная норма*	100-10000	780-7700	1300-14000	1300-14000	1000-100000	2000-22000	780-7700
Лимфоциты (×10 ⁹ /л)		0,75	3,8	3,93	0,47	0,9	4,90	1,81
CD3 ⁺ (×10 ⁹ /л)		0,03	3,38	2,18	0,20	0,45	3,29	1,31
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (×10 ⁹ /л)		0,02	1,68	1,65	0,11	0,23	2,06	0,62
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (×10 ⁹ /л)		0,01	1,33	1,12	0,05	0,17	0,83	0,59
CD19 ⁺ (×10 ⁹ /л)		0,54	0,006	0,35	0,08	0,21	1,08	0,19
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (×10 ⁹ /л)		0,006	0,36	0,59	0,36	0,02	0,54	0,63
CD3 ⁺ HLADR ⁺ (×10 ⁹ /л)		0,004	0,11	0,62	0,07	0,41	0,29	0,22
IgA (г/л)		0,23	0,00	0,45	0,01	0,72	0,25	1,10
IgM (г/л)		0,36	0,09	1,54	0,25	2,13	0,25	0,53
IgG (г/л)		2,3	1,2	9,19	0,4	9,37	10,7	6,09
Аномальный ген		IL2RG	BTK	RAB27A	LIG4	ATM	не известен	не известен
Мутация		C.116-1G>C GRCh38.p3	c.240+1G>C GRCh38.p5	c.149delG; p.Arg50LysfsTer35	c.845A>G,p.H282R. c.1199T>G,p.I1400R	c.3928C>Tp. Gen1310Ter	—	—
Базисная терапия / Исход		ганцикловир, фоскарнет, в/в Ig / гибель	в/в Ig	ТГСК	ко-тримоксазол, азитромицин, флуконазол, месалазин, в/в Ig	азитромицин, в/в Ig	цефиксим в/в Ig	азитромицин, флуконазол, в/в Ig

Примечание: *в качестве возрастной нормы указаны референсные значения, принятые по месту выполнения исследования в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России или ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ.

У 5 из 7 обследованных детей с настораживающими признаками ПИД, установлено резкое снижение количества одного (TREC или KREC) или обоих (TREC+KREC) показателей эксцизионных колец, что подтверждалось данными иммунофенотипирования лимфоцитов и уровнем сывороточных иммуноглобулинов. В результате молекулярно-генетического исследования в последующем верифицированы диагнозы: ТКИД, болезнь Брутона, атаксия-телеангиэктазия, ТКИД с дефектом ДНК-лигазы IV, недифференцированный КИД. Умеренное снижение уровня TREC отмечено у мальчика с уточненным синдромом Грисцелли 2. В одном случае диагностический поиск продолжается. Мультиплексный анализ количества TREC и KREC был также проведен пациентам с тяжелой пневмонией (4) и неонатальным сепсисом (4) (табл. 4).

Таблица 4 – Показатели иммунного статуса у пациентов с врожденной пневмонией и неонатальным сепсисом

	П 1	П2	П3	П4	П5	П6	П7	П8
Пол	муж.	муж.	муж.	жен.	муж.	жен.	жен.	муж.
Сроки гестации	27 нед	26 нед.	38 нед.	34 нед.	30 нед.	33 нед.	32 нед.	31 нед.
Вес при рождении	1200 г	950 г	3450 г	1650 г	1480 г	1950 г	1490 г	2100 г
Настораживающие признаки ПИД	неонат. сепсис,	неонат. сепсис	пневмония	неонат. сепсис	неонат. сепсис	пневмония	пневмония	пневмония
TREC (на $10^5/L$)	$1,03 \cdot 10^3$	$5,22 \cdot 10^2$	$7,41 \cdot 10^2$	$1,22 \cdot 10^3$	$9,52 \cdot 10^2$	$6,49 \cdot 10^2$	$1,02 \cdot 10^3$	$9,17 \cdot 10^2$
Возрастная норма TREC	более $6 \cdot 10^2$ / на $10^5/L$							
KREC (на $10^5/L$)	$9,86 \cdot 10^1$	$1,47 \cdot 10^3$	$5,76 \cdot 10^2$	$5,18 \cdot 10^2$	$2,89 \cdot 10^2$	$5,15 \cdot 10^3$	$2,54 \cdot 10^3$	$1,92 \cdot 10^4$
Возрастная норма KREC	$5,0 \cdot 10^2$ – $5,0 \cdot 10^4$ / на $10^5/L$							
Лимфоциты $\cdot 10^9/L$	0,32	1,42	4,1	4,9	2,32	1,95	2,02	6,7
Исход	летальный	летальный.	благопр.	благопр.	благопр.	благопр.	благопр.	благопр.

Примечание: *в качестве возрастной нормы указаны референсные значения, принятые по месту выполнения исследования в ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ».

Показатели эксцизионных колец у пациентов с врожденной пневмонией не отличались от нормальных. На фоне антибактериальной и патогенетической терапии отмечен благоприятный исход. У 2-х детей с неонатальным сепсисом были снижены показатели KREC, у одного – показатели TREC. Летальный исход наступил в 2-х случаях в возрасте 76 и 178 дней. Оба ребенка имели крайнюю степень недоношенности (26 и 27 недель). В одном случае верифицированы врожденные пороки развития (гипоплазия левого легкого, аномалия развития бронхов, коарктация аорты), в другом – тяжелая бронхолегочная дисплазия. Представленные в работе сведения позволяют рекомендовать количественное определение TREC и KREC у детей с настораживающими признаками ПИД в качестве высокоинформативного метода на ранних этапах диагностического поиска.

Выводы

1. Минимальная распространенность первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае составляет 3,1:100 000 населения, соотношение пациентов мужского и женского

пола – 1:2,03. В когорте живых пациентов преобладают дети (74,7%). Медиана возраста больных достигает 10 лет. Самому младшему пациенту 3 мес., самому старшему – 74 года.

2. В регистре первичных иммунодефицитов Ставропольского края верифицировано 27 нозологических форм ПИД. Молекулярно-генетический диагноз подтвержден у 38,6% больных. Наиболее распространенными являются дефекты гуморального звена (44,3%), второе место занимают комбинированные иммунные нарушения с синдромальными проявлениями (15,9%), третье – дефекты фагоцитоза (10,2%).

3. Преобладающими клиническими проявлениями первичных ИДС являются инфекции (73,9%), реже встречаются признаки иммунной дисрегуляции (18,1%), онкологические заболевания (4,5%), а также рецидивирующие «холодные» отеки у пациентов с НАО (8%).

4. Задержка в постановке диагноза ПИД составляет 2,9 (0; 51) года. У детей первичные иммунодефициты диагностируются быстрее (медиана – 2,6 года), чем у взрослых (медиана – 3,5 года).

5. Трансплантация гемопоэтических клеток осуществлена у 11,4% больных. Препараты внутривенных иммуноглобулинов получают 21,5% пациентов, непрерывную противомикробную терапию – 17,7%, таргетные антицитокиновые препараты – 8,9%. Летальность в когорте больных ПИД в регистре СК достигает 6,8%.

6. Ретроспективное определение TREC и KREC в сухих пятнах крови неонатального скрининга позволяет идентифицировать нозологические синдромы отдельных ПИД как причины ранней детской смертности. У 11,6% умерших детей определяется значительное снижение TREC и/или KREC до недетектируемых значений, что подтверждается клиническими и патоморфологическими признаками врожденных ИДС.

7. Развитие акцидентальной инволюции тимуса не связано с показателями TREC и KREC у новорожденных. Снижение уровня TREC наблюдается у недоношенных детей со сроками гестации менее 28 недель, а также в группе пациентов с врожденными пороками сердца и магистральных сосудов, желудочно-кишечного тракта, почек и мочевыводительных путей, болезнью Дауна.

Практические рекомендации

1. Определение TREC и KREC методом мультиплексного анализа у детей сстораживающими признаками является эффективным методом и рекомендуется для выявления первичных ИДС на ранних этапах диагностического поиска.

2. Показатели TREC и KREC могут учитываться в качестве дополнительных признаков неблагоприятного исхода у больных с тяжелыми инфекциями неонатального периода (неонатальный сепсис, менингит, пневмония).

3. Определение TREC и KREC у глубоко недоношенных детей и пациентов с врожденными пороками развития может быть рекомендовано при определении тактики заместительной и профилактической антимикробной терапии.

4. Учитывая гиподиагностику ПИД на территории Ставропольского края, целесообразно активизировать работу с врачами различных специальностей и внедрение образовательных программ, способствующих формированию настороженности в отношении первичных иммунодефицитов с целью уменьшения времени задержки диагноза и маршрутизации пациентов в отделения иммунологического профиля федеральных учреждений.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования и систематизация данных о пациентах с первичными иммунодефицитами являются необходимыми для формирования региональных и федеральных программ по внедрению скрининговой диагностики этих тяжелых заболеваний и их ранней терапии с целью увеличения выживаемости и улучшения качества жизни этих больных.

Список опубликованных работ по теме диссертации:

1. Клинический случай синдрома Вискотта-Олдрича в регистре первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае /Л.Ю. Барычева, **Л.С. Хачирова**, Л.В. Душина [и др.] // Материалы Северо-Кавказской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в медицине детского возраста Северо-Кавказского федерального округа». – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2018. – С.91-93.

2. Тяжелый комбинированный иммунодефицит (клинический случай) /**Л.С. Хачирова**, М.М. Минасян, Ю.Н. Медведенко [и др.] // Материалы Северо-Кавказской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в медицине детского возраста Северо-Кавказского федерального округа». – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2018. – С.225-227.

3. Синдром Вискотта-Олдрича в практике педиатра / **Л.С. Хачирова**, С.М. Аллагулиева, Ю.Н. Медведенко [и др.] // Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. – Астрахань, 2018. – №3 – С. 12-13.

4. Эпидемиология первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае / Л.Ю. Барычева, **Л.С. Хачирова**, Л.Т. Кубанова [и др.] // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции педиатров, неонатологов и детских реаниматологов «Актуальные вопросы педиатрии, неонатологии и детской реаниматологии» – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2019. – С.9-13.

5. Синдром Грисцелли 2 типа (случай из практики) / Л.Ю. Барычева, П.В. Тарасова, **Л.С. Хачирова** [и др.] // Сборник материалов межрегиональной научно-практической

конференции педиатров, неонатологов и детских реаниматологов «Актуальные вопросы педиатрии, неонатологии и детской реаниматологии» – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2019. – С.9-13.

6. Эффективность определения TREC и KREC для скрининговой диагностики первичных иммунодефицитов: ретроспективный анализ клинических случаев / Л.Ю. Барычева, А.Н. Обедин, **Л.С. Хачирова** [и др.] // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции педиатров, неонатологов и детских реаниматологов «Актуальные вопросы педиатрии, неонатологии и детской реаниматологии» – Ставрополь, 2019. – С.17-22.

7. Эпидемиологическая характеристика врожденных иммунодефицитов в Ставропольском крае / Л.Ю. Барычева, **Л.С. Хачирова**, Л.Т. Кубанова [и др.] // Проблемы Медицинских наук. – 2019. – Т.50. – №1. – С. 48-51. 10.31618/nas.2413-5291.2019.1.50.107

8. Синдром Вискотта-Олдрича / Л.Ю. Барычева, М.В. Голубева, М.М. Минасян, П.В. Тарасова, **Л.С. Хачирова** // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017, Т.12. – №4. – С.469-471.

9. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости / А.А. Мухина, Н.Б. Кузьменко, Ю.А. Родина, И.В. Кондратенко, А.А. Бологов, Т.В. Латышева, А.П. Продеус, А.Н. Пампура, И.И. Ильина, Е.А. Латышева, Д.Н. Балашов, А.М. Костинова, О.Е. Пашенко, Н.В. Зиновьева, С.Б. Зимин, Хорева, А.А. Моисеева, А.Ю. Кутлянцева, Д.А. Филоненко, Л.Ю. Барычева, С.М. Аллагулиева, **Л.С. Хачирова** [и др.]. // Педиатрия. – 2019. – Т. 98, № 3. – С. 24-31.

10. Диагностическая значимость эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов для диагностики иммунных нарушений / **Л.С. Хачирова**, Л.Ю. Барычева, Л.Т. Кубанова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019, Т.14 – № 4. – С. 631-635.

11. Регистр первичных иммунодефицитов в Ставропольском крае / Л.Ю. Барычева, **Л.С. Хачирова**, Л.Т. Кубанова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019, Т.14 – № 4. – С. 693-694.

12. Определение эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов для диагностики первичных иммунодефицитов: ретроспективный обзор клинических случаев / Л.Ю. Барычева, **Л.С. Хачирова**, Л.Т. Кубанова [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2019. – Т14. – №6. – С. 98-103.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИ – акцидентальная инволюция

ВПР – врожденные пороки развития

ГКСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ИДС – иммунодефицитные состояния

КИД – комбинированный иммунодефицит

МСИО – Международный Союз иммунологических обществ

НАЭПИД – Национальная ассоциация экспертов в области первичных иммунодефицитов

ОВИН – общая переменная иммунная недостаточность

ПИД – первичные иммунодефициты

СК – Ставропольский край

ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ТКИД – тяжелый комбинированный иммунодефицит

ХГБ – хроническая гранулематозная болезнь

ЦМВИ – цитомегаловирусная инфекция

APECED – autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy – аутоиммунная полиэндокринопатия кандидоз-эктодермальная дисплазия

CD – кластер дифференцировки – единая система номенклатуры антигенных маркеров (мембранных белков) клеток иммунной системы

CID – combined immunodeficiency – комбинированный иммунодефицит

ESID – European Society for Immunodeficiencies – Европейское общ-во иммунодефицитов

IgM, IgA, IgG, IgE – классы антител

IUIS – International Union of Immunological Societies – международный союз иммунологических обществ

KREC – каппа-делеционный элемент колец рекомбинации

NBT – nitro-blue tetrazolium test – тест восстановления нитросинего тетразолия

SCID – severe combined immunodeficiency – тяжелый комбинированный иммунодефицит)

SDIgA – Selective deficiency IgA – селективный дефицит иммуноглобулина А

TREC – T-cell receptor excision circle – эксцизионные кольца реаранжировки генов Т-клеточного рецептора

XLA – X-linked agammaglobulinemia – X-сцепленная-агаммаглобулинемия