

ЧЕРЕМОХИН ДМИТРИЙ АНДРЕЕВИЧ

**ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ
У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

(3.2.7 - аллергология и иммунология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2022

Работа выполнена в лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН, отделении клинической иммунологии Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Областная детская клиническая больница» и лаборатории молекулярной диагностики Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр Охрана здоровья матери и ребенка».

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор, ЗДН РФ

**Тузанкина
Ирина Александровна**

Академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор

**Черешнев
Валерий Александрович**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

**Калинина
Наталья Михайловна**

Доктор медицинских наук, профессор,
директор Медицинского института,
заведующая кафедрой иммунологии и
специализированных клинических дисциплин
ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева»

**Снимщикова
Ирина Анатольевна**

Ведущая организация – Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Санкт-Петербург)

Защита состоится «07» сентября 2022 года в 10-00 часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 004.027.02 на базе ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН (620041, г. Екатеринбург, ул. С. Ковалевской, д.22/20) и на сайте ИИФ УрО РАН - <http://iip.uran.ru>, с авторефератом – там же и на сайте ВАК РФ (<http://vak2.ed.gov.ru>).

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года

Ученый секретарь Совета Д 004.027.02
на базе ИИФ УрО РАН,
д.м.н., профессор, ЗДН РФ

И.А. Тузанкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В современном мире врожденные ошибки иммунитета (ВОИ), или первичные иммунодефициты (ПИД), являются одной из основных причин детской инвалидности и смертности, отражающих демографическое состояние человечества не только в настоящее время, но и в перспективе (Тузанкина И.А. и др., 2022). По данным на 2020, количество случаев детской смерти в Российской Федерации достигла 6489, из них 21,3% - дети с врожденными пороками развития (Росстат, 2020). В 30% случаев врожденные пороки сердца (ВПС) являются частью симптомокомплекса первичных иммунодефицитов. В Свердловской области за последние 5 лет детей, погибших от тяжелого комбинированного первичного иммунодефицита, было около 30%. В настоящее время, по данным на 2021 год, первичные иммунодефициты среди детского населения Свердловской области встречались с частотой 1:1998 детей (Тузанкина И.А. 2021). Кроме того, проявления грибково-бактериального сепсиса имели место у 20% детей с летальными исходами, генерализованная вирусная инфекция – у 33%, респираторные инфекции – у 26% умерших детей. Наблюдались тяжелые вирусно-бактериальные инфекционные осложнения раннего постоперационного периода после коррекции врожденных пороков сердца, поскольку у таких детей могут быть нарушены репаративные процессы, снижена физиологическая толерантность, что сопровождается аутоиммунным поражением органов и неконтролируемым системным воспалением (Дерябина С.С., 2017). Развитие тяжелых и необратимых послеоперационных осложнений у детей с ПИД приводит к существенным трудностям курации в послеоперационном периоде, часто требует значительных экономических затрат и финансовых вложений на лечение и жизнеобеспечение (Самаль Т.Н., 2012). Таким образом, важность раннего дооперационного выявления иммунодефицитов у детей с врожденными пороками сердца, равно как и необходимость профилактики данных форм патологии, имеют не только медицинское, но и социально-экономическое значение. Поэтому в настоящее время остается важным поиск новых лабораторных и клинических инструментов ранней диагностики первичных иммунодефицитов.

Цель исследования – охарактеризовать фенотипические и молекулярно-генетические аспекты первичных иммунодефицитов у детей с врожденными пороками сердца

Задачи исследования:

1. Определить место первичных иммунодефицитов в структуре ранней детской смертности в Свердловской области.
2. Определить спектр нозологических синдромов первичных иммунодефицитов с фенотипическими проявлениями в виде врожденных пороков сердца.
3. Разработать референсные значения маркеров Т- и В-клеточных лимфопений у детей с разным гестационным возрастом и оценить информативность молекулярно-генетических маркеров для выявления вариантов первичных иммунодефицитов с фенотипическими проявлениями в виде врожденных пороков сердца.
4. Провести ретроспективный анализ течения пренатального и постнатального периодов жизни пациентов с первичными иммунодефицитами, имеющих врожденные пороки сердца.
5. Определить спектр фенотипических проявлений первичных иммунодефицитов и врожденных пороков сердца при аномалиях региона 22q11.2, как наиболее часто встречаемой формы первичного иммунодефицита с врожденными пороками сердца.

Методология и методы исследования. Работа выполнена в лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург), отделении клинической иммунологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» и лаборатории молекулярной диагностики ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка».

Для решения поставленных в работе задач были проанализированы результаты обследований 271 ребенка. Им была проведена иммунологическая оценка состояния здоровья, выполнен сравнительный анализ клинических и лабораторных данных.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора. Достоверность полученных результатов исследования обеспечена обоснованностью исходных теоретических позиций, достаточным объемом

выборки, использованием современных лабораторных методов, воспроизводимостью результатов исследований, применением компьютерных программ статистического анализа полученных данных.

Основные положения работы доложены и обсуждены на: Международном Евро-Азиатском «Конгрессе по вопросам биоэтики, молекулярной и персонализированной медицины Biomed-inn-2019», (Пермь, 2019), Международной научной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии OrgChemBioTech2020» (Екатеринбург, 2020), III научно-практической internet-конференции с международным участием «Механизмы развития патологических процессов и болезней, их фармакологическая коррекция» (Харьков, 2021), I Международном Конгрессе «Врач-Пациент-Общество: Иммуитет-2021» (Екатеринбург, 2021), Российской конференции с международным участием «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КОМПЬЮТЕРНАЯ БИОМЕДИЦИНА» (Екатеринбург, 2021), IV Выездной научно-практической школе-конференции Российского научного общества иммунологов «КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ, АЛЛЕРГОЛОГИЯ И ИНФЕКТОЛОГИЯ» (Республика Кыргызстан, 2022), II Международном конгрессе «Врач-Пациент-Общество: Иммуитет-2022» (Екатеринбург, 2022).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования. Создание базовой идеи, планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, целей, задач работы, определение методологии диссертационного исследования, интерпретация и анализ полученных результатов проводились диссертантом совместно с научными руководителями д.м.н., проф. заслуженным деятелем науки РФ И.А. Тузанкиной и академиком РАН, д.м.н., проф. В.А. Черешневым. Кроме того, совместно с проф. Тузанкиной И.А. разработан диагностический алгоритм ведения пациентов с врожденными пороками сердца. Совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной диагностики проведены исследования по поиску аномалий региона q11.2 хромосомы 22. Лично автором проведен анализ литературы по изучаемой проблеме, выполнены лабораторные исследования по количественной оценке TREC и KREC, осуществлены статистическая обработка результатов, написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов

работы в научных публикациях и в виде докладов на различных конгрессах конференциях и форумах.

Положения, выносимые на защиту.

1. Врожденные пороки сердца – часть симптомокомплекса врожденных ошибок иммунитета, встречающаяся в 37 % случаев первичных иммунодефицитов, среди которых синдром делеции 22q11.2, CHARGE-синдром, синдром Швахмана-Даймонда, синдром Кабуки 1-го и 2-го типов и варианты хромосомных болезней с тяжелым иммунодефицитом: трисомии по 18 и 21 хромосомам, моносомия по X-хромосоме.

2. Частота встречаемости синдрома делеции 22q11.2 в Свердловской области составляет 1:9895 детей, фенотипические проявления которого очень вариабельны: врожденные пороки сердца наблюдаются в 72% случаев, лицевой дисморфизм – в 78%, гипоплазия тимуса – в 58%, снижение TREC в 49%, психические и неврологические проявления в 90% случаев.

3. Диагностический алгоритм при первичных иммунодефицитах с врожденными пороками сердца, включающий проведение скрининговых программ по выявлению маркеров иммунозависимой патологии, прием врача аллерголога-иммунолога, ультразвуковое исследование тимуса, иммунологические лабораторные тесты, проведение молекулярно-генетических исследований для исключения синдрома делеции 22q11.2, должен применяться с момента рождения.

Научная новизна исследования

Впервые проанализированы летальные случаи детей Свердловской области с врожденными пороками сердца, ассоциированными с первичными иммунодефицитами в генетическом, фенотипическом и статистическом аспектах.

Впервые проведено ретроспективное определение количества эксцизионных рекомбинационных колец наивных Т- и В-лимфоцитов в сухих пятнах крови в группе детей с первичными иммунодефицитами, ассоциированными с врожденными пороками сердца.

Впервые проведена оценка информативности молекулярно-генетических методов диагностики у детей с врожденными пороками сердца, ассоциированными с первичными иммунодефицитами.

Впервые описан спектр врожденных пороков сердца в структуре летальности детей с первичными иммунодефицитами в Свердловской области.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Полученные результаты обуславливают важность глубокого исследования проблемы первичных иммунодефицитов и врожденных пороков развития, в частности, пороков сердца. Врожденные пороки сердца, являясь одним из частых проявлений наследственных болезней при первичных иммунодефицитах у детей с летальными исходами, встречаются в 37% случаев.

Разработан алгоритм ведения пациентов, имеющих первичные иммунодефициты с врожденными пороками сердца, включающий проведение скрининговых технологий по выявлению маркеров иммунодефицитов, прием врача аллерголога-иммунолога, ультразвуковое исследование тимуса, определение иммунологических параметров крови, проведение генетических исследований для исключения синдрома делеции 22q11.2. Внедрение его в практику позволяет своевременно выявлять среди пациентов с врожденными пороками сердца группу риска по первичным иммунодефицитам и применять патогенетически обоснованные терапевтические и куративные мероприятия.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования внедрены в практику ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» и «КДЦ «Охрана здоровья матери и ребенка», используются в работе Областной комиссии Минздрава Свердловской области по разбору случаев младенческих и детских смертей. Разработанный алгоритм используется при диагностике у детей с врожденными пороками сердца.

Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург и в педагогический процесс при работе с аспирантами ИИФ УрО РАН по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 7 работ, из них 4 – в рецензируемых ВАК научных изданиях и входящих в международные базы данных Scopus, PubMed, 1 монография, остальные в других изданиях.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 149 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц, 35 рисунков, 6 клинических случаев и состоит из следующих разделов: оглавление, введение, обзор литературы, главы с описанием материалов и методов исследований, 4 главы с результатами собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список цитируемой литературы, список условных сокращений. Библиографический указатель включает 218 источников, из них 25 отечественных и 193 – зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований. Для достижения цели и решения поставленных задач были проанализированы результаты обследований 271 ребенка. Данная когорта была разделена на 4 группы.

В первую группу вошло 135 случаев постмортально диагностированных первичных иммунодефицитов. Из них 50 случаев с клиническими признаками иммунозависимой патологии с врожденными пороками сердца, которые составили вторую исследуемую группу. В третью группу вошло 56 случаев с аномалиями региона q11.2 хромосомы 22. В группу сравнения были отобраны 80 новорожденных детей разной степени доношенности, родившихся в период исследования.

Материалами для проведения ретроспективного анализа состояния здоровья детей служили медицинская документация (медицинская карта стационарного больного форма №003/у, протокол патолого-анатомического вскрытия форма №013/у, медицинская карта амбулаторного пациента форма №025/у, выписка из амбулаторной карты форма №027/у, медицинская карта беременной форма №096/у, история развития новорожденного форма №097/у, индивидуальная карта беременной и родильницы форма №111/у), которая была оформлена при их госпитализации и амбулаторных посещениях, результаты лабораторных и инструментальных методов исследования, протоколы аутопсий и результаты постмортальных гистологических исследований.

Для верификации диагноза «первичный иммунодефицит» применялись молекулярно-генетические методы исследования: метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени, метод мультиплексной лигазной амплификации проб (multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA), метод сравнительной геномной гибридизации, основанной на технологии VACs-on-Beads.

В нашей работе проанализированы фенотипические и молекулярно-генетические данные, полученные прижизненно при обследовании детей, имевших признаки первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца. Результаты наших исследований позволяют утверждать, что наиболее простым и перспективным методом раннего выявления иммунодефицита у детей с врожденными пороками сердца (ВПС) является определение

молекулярно-генетических маркеров лимфопений (TREC и KREC), а также наличие ряда клинических проявлений, что позволит уже на доклинической стадии развития болезни начинать патогенетически обоснованную терапию и формировать группы риска послеоперационных осложнений для своевременного предупреждения их развития.

Статистическая обработка результатов исследований проведена непараметрическими методами, применяемыми для малых выборок с принятием доверительной вероятности $p \leq 0,05$ с использованием пакета прикладных программ MS Excel, SPSS Statistics, Statistica.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки роли первичных иммунодефицитов в структуре ранней детской смертности в Свердловской области и спектра нозологических синдромов первичных иммунодефицитов было проанализировано 135 случаев. В Свердловской области частота выявления случаев первичных иммунодефицитов среди детского населения к началу 2021 года составляла 1:1998 [21]. Среди пациентов с иммунозависимой патологией в 135 случаях диагноз констатирован уже постмортально, согласно заключению экспертной комиссии Минздрава Свердловской области. Проанализировав заключения постмортальных экспертиз, мы получили данные о том, что в 59% случаев дети погибали от неуточненного первичного иммунодефицита, в 13% - от тяжелой комбинированной иммунной недостаточности, для которой разработаны патогенетически обоснованные терапевтические подходы, благодаря чему количество летальных исходов может быть снижено, при условии своевременной диагностики.

Неинфекционное генерализованное воспаление имело развитие в 7% случаев, так же, как и врожденная нейтропения. С меньшей частотой (3%) в данной группе пациентов встречалась постмортально выявленная агаммаглобулинемия, причиной чему могла быть высокая доступность лабораторных диагностических и терапевтических инструментов для своевременного оказания патогенетически обоснованной медицинской помощи (рисунок 1).

Врожденные пороки сердца – одно из часто встречаемых проявлений наследственных болезней, по нашим данным, ВПС среди детей с первичными иммунодефицитами встречались в 37% случаев.

Спектр нозологических синдромов первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца, по данным литературных источников, подтвержденный нашими исследованиями, включал синдром делеции 22q11.2, синдром недостаточности TBX1, CHARGE-синдром, синдромы Швахмана-Даймонда, Кабуки 1-го и 2-го типов и варианты хромосомных болезней с тяжелым иммунодефицитом: трисомии по 18 и 21 хромосомам, моносомию по X-хромосоме.

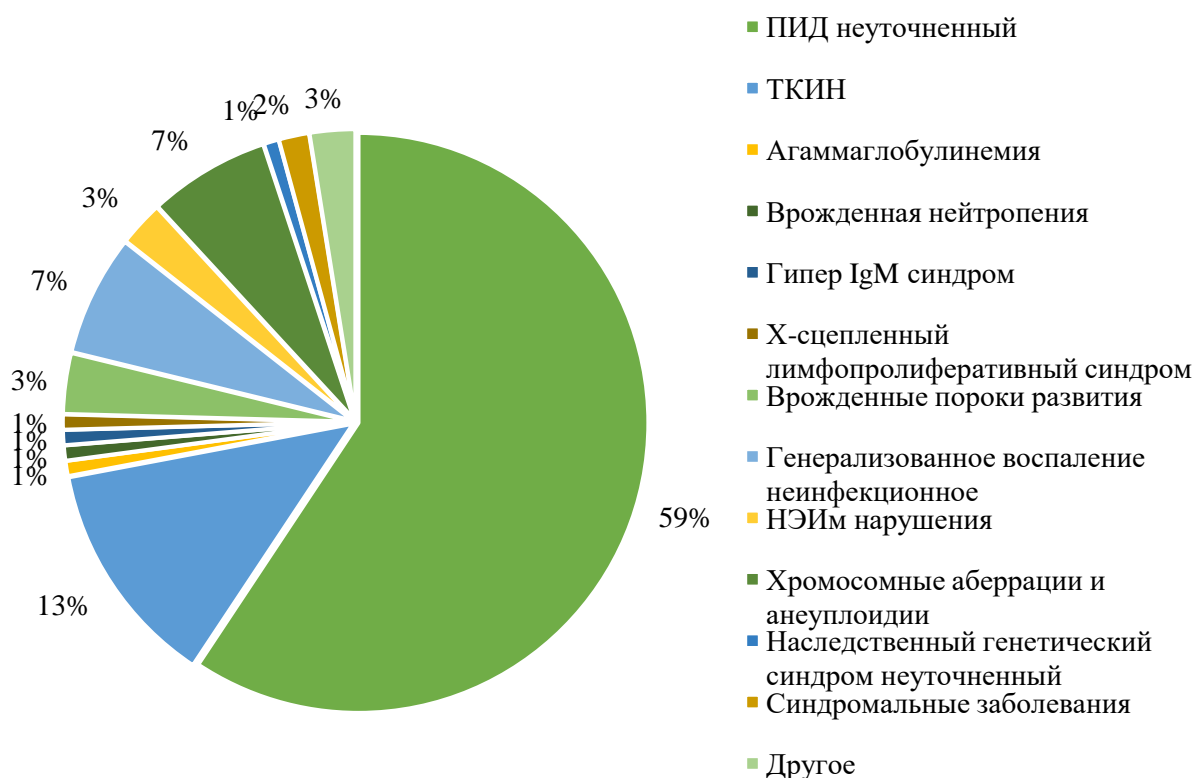


Рисунок 1 – Нозологический спектр у детей с постмортально установленным диагнозом

При анализе соотношения летальных случаев с нозологическими проявлениями врожденных ошибок иммунитета относительно гестационного возраста пациентов оказалось, что 61% детей были недоношенными: в 25,4% случаев это была экстремальная недоношенность, в 16,1% - глубокая

недоношенность, недоношенность средней степени – в 6,8%, легкая степень недоношенности – в 12,7% случаев.

В пользу предполагаемого диагноза первичных иммунодефицитов выступали некоторые анамнестические данные о течении пренатального периода настоящей и предшествующих беременностей – наличие угрозы прерывания на ранних сроках, наличие случаев ранней детской смерти, персистирующие вирусные и бактериальные инфекции у матери, наличие осложнений течения беременности у матери.

Для оценки информативности применяемых в работе молекулярно-генетических методов исследования (определение TREC и KREC в сухом пятне крови, взятом для неонатального скрининга наследственных болезней) в диагностике первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца проводили сравнительный анализ основной группы детей с первичными иммунодефицитами с врожденными пороками сердца и детей, не имевших признаков иммунодефицита и не получавших переливания компонентов крови.

В нашей работе мы определили референсные интервалы для молекул TREC и KREC, исследуемых в сухих пятнах крови детей различных гестационных групп количественным методом, и пришли к выводу о том, что для молекул TREC возраст ребенка является значимым фактором ($p < 0,05$), а для KREC статистически значимых отличий между группами с разными степенями недоношенности обнаружено не было (*таблица 1*).

Результаты анализа показали, что в 66,7% случаев иммунодефицита, диагностированного постмортально, был снижен хотя бы один показатель (TREC или KREC), что может свидетельствовать о том, что метод информативен и может быть использован прижизненно для выявления иммунодефицита.

Для проведения сравнительного анализа результатов количественного определения молекул TREC и KREC у детей первичными иммунодефицитами, имевших врожденные пороки сердца, были исследованы пробы 36 детей из

архивных образцов высушенной крови, взятых для неонатального скрининга других нозологий.

Таблица 1 – Количество молекул TREC и KREC (копий / 10^5 лейкоцитов) в сухих образцах крови условно здоровых детей разной степени недоношенности в раннем неонатальном периоде

Степень недоношенности	Среднее	95% интервал	Стандартная ошибка среднего	MIN	MAX
TREC, копий / 10^5 лейкоцитов *					
Экстремальная недоношенность (n=20)	402.7	116.6 –784.0	52.8	115.9	978.0
Глубокая недоношенность (n=20)	611.1	271.0 –917.9	52.5	261.4	1115.6
Недоношенность средней и легкой степени (n=20)	776.1	378.2 –1405.5	76.5	263.6	1505.6
Доношенные (n=20)	723.9	406.1 –1133.2	52.2	398.1	1174.0
KREC, копий / 10^5 лейкоцитов					
N=80	599.9	210.9 –1103.5	34.9	162.8	1584.0

Примечание: * - статистически значимые различия

Эти дети были разделены в зависимости от степени недоношенности на три подгруппы: подгруппа 2.1 – экстремально и глубоко недоношенные дети (n=10), подгруппа 2.2 – дети с недоношенностью средней и легкой степени (n=16), группа 2.3 – доношенные новорожденные (n=12). При проведении сравнительного анализа оказалось, что во всех случаях результаты TREC и KREC были статистически значимо снижены (рисунок 2).

Кроме того, мы исследовали количественное содержание молекул TREC и KREC в образцах сухой крови пациентов с делецией региона q11.2 хромосомы 22. Результаты данного исследования продемонстрировали наличие положительного результата TREC, сниженного относительно группы сравнения, в 49% случаев.

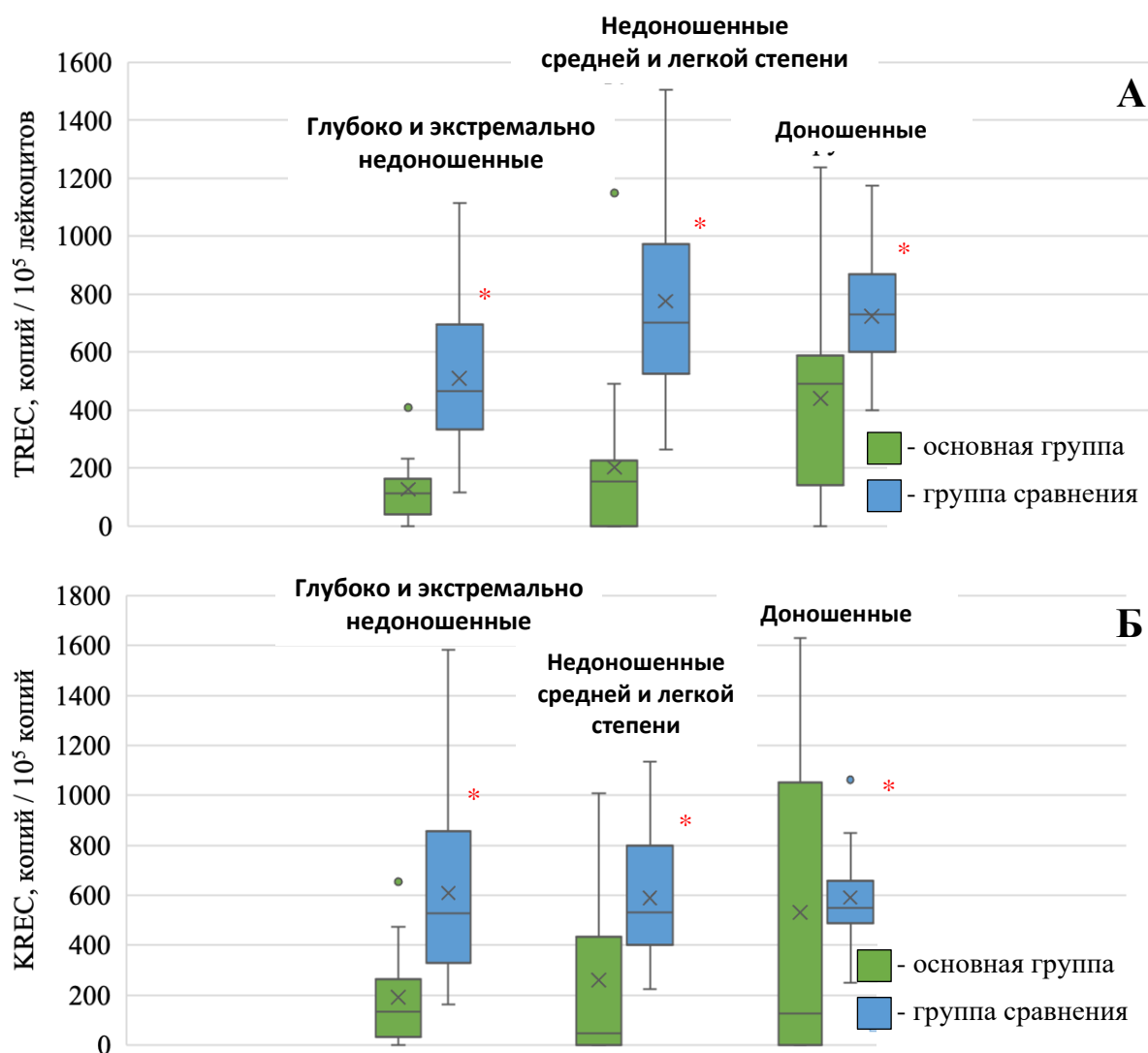


Рисунок 2 – Количество молекул TREC (А) и KREC (Б) в образцах сухой крови пациентов с врожденными ошибками иммунитета и пороками сердца

Примечание: основная группа – дети с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца: * - достоверные отличия ($p < 0,05$).

При ретроспективном анализе течения пренатального периода развития детей с первичными иммунодефицитами, имевших врожденные пороки сердца ($n=50$), наблюдались факты неблагоприятного течения беременности: инфекционные заболевания – отмечены в 69% случаев, при этом в 8% из них была ВИЧ-инфекция, нарушения маточно-плацентарного кровообращения имели место в 28% случаев, анемия у матерей – в 30% случаев, артериальная гипертензия и другие заболевания сердечно-сосудистой системы наблюдались у беременных в 27% случаев. С меньшей частотой выявлялись такие негативные факторы, как алкоголизм – 5%, табакокурение – 3% (рисунок 3).

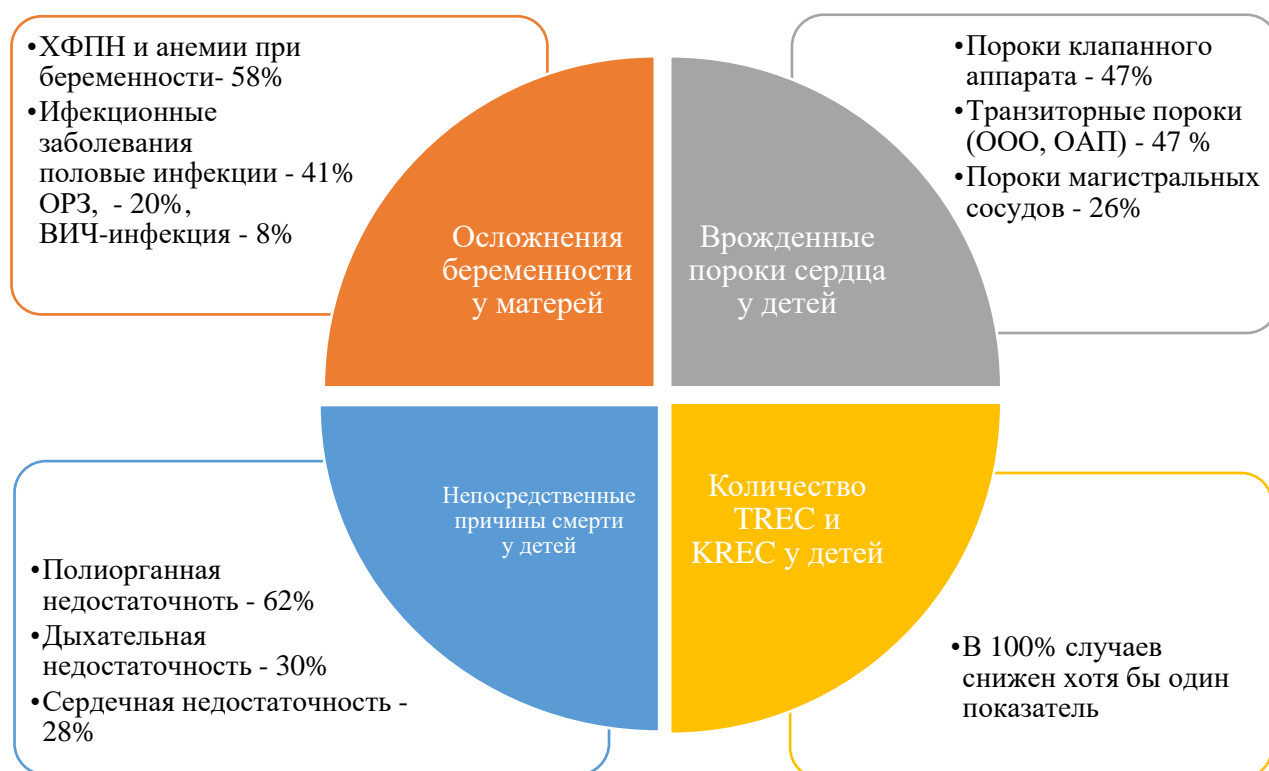


Рисунок 3 – Клинические и фенотипические проявления первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца

Примечание: ХФПН – хроническая фетоплацентарная недостаточность, ООО – открытое овальное окно, ОАП – открытый артериальный проток.

При анализе врожденных пороков сердца у пациентов с первичными иммунодефицитами выявлен широкий спектр форм кардиологической патологии (рисунок 4).

Важным фактором, приводящим к множеству других нарушений иммунной системы, было наличие морфофункциональных изменений главного органа иммунной системы – тимуса. В исследуемой группе детей аномалии тимуса, такие как гипо-/ аплазированное состояние или диспластические изменения органа, встречались у 79% детей.

Самой частой непосредственной причиной летальных исходов, по нашим данным, стала полиорганная недостаточность, выявленная в 62% случаев первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца, которая являлась следствием генерализации инфекционного процесса, что является характерным признаком первичного поражения иммунной системы.



Рисунок 4 – Спектр врожденных пороков сердца у пациентов с врожденными ошибками иммунитета

У пациентов кардиохирургического отделения в постоперационном периоде в 7% случаев наблюдался неонатальный сепсис, отмечалось наличие долго незаживающих послеоперационных ран, причиной которых могли быть врожденные ошибки иммунитета с нарушением систем репарации. С сопоставимой частотой причиной непродолжительного летального исхода были дыхательная (29%) и сердечная (27%) недостаточность (рисунок 5).



Рисунок 5 – Спектр непосредственных причин смерти детей с врожденными ошибками иммунитета и пороками сердца

Самым часто встречаемым первичным иммунодефицитом с врожденными пороками сердца является синдром делеции критического региона q11.2 хромосомы 22. Поэтому была проанализирована группа детей с

этой патологией. Всего по состоянию на июнь 2022 года в регистре пациентов Свердловской области с первичными иммунодефицитами зарегистрировано 469 детей, из них 51 пациент с синдромом ДиДжорджи (10,9% от общего числа детей в регистре). Проанализировав частоту встречаемости синдрома делеции 22q11.2, мы пришли к выводу о том, что распространенность данной болезни среди детского населения составляла 1:9895 детского населения Свердловской области.

В нашей работе было проанализировано 56 случаев с аномалиями критического региона q11.2 хромосомы 22, в число которых входили (пациентов, входящих в регистр детей с ПИД – 42, постмортально выявленных – 6, перешедших во взрослый регистр – 3, из соседних регионов – 5 случаев): 52 случая с делецией «классического размера» (del22q11.2(A-D)), один случай делеции 22q11.2(B), случай частичной делеции 22q11.2(A) – 1, дупликация критического региона q11.2 – 2, один случай дупликации регионов 22q11.2(A)+CES (регион синдрома кошачьего глаза).

В результате проведенного нами анализа был выявлен спектр фенотипических проявлений, характеризующихся широкой вариабельностью форм и частоты их встречаемости (рисунк 35).

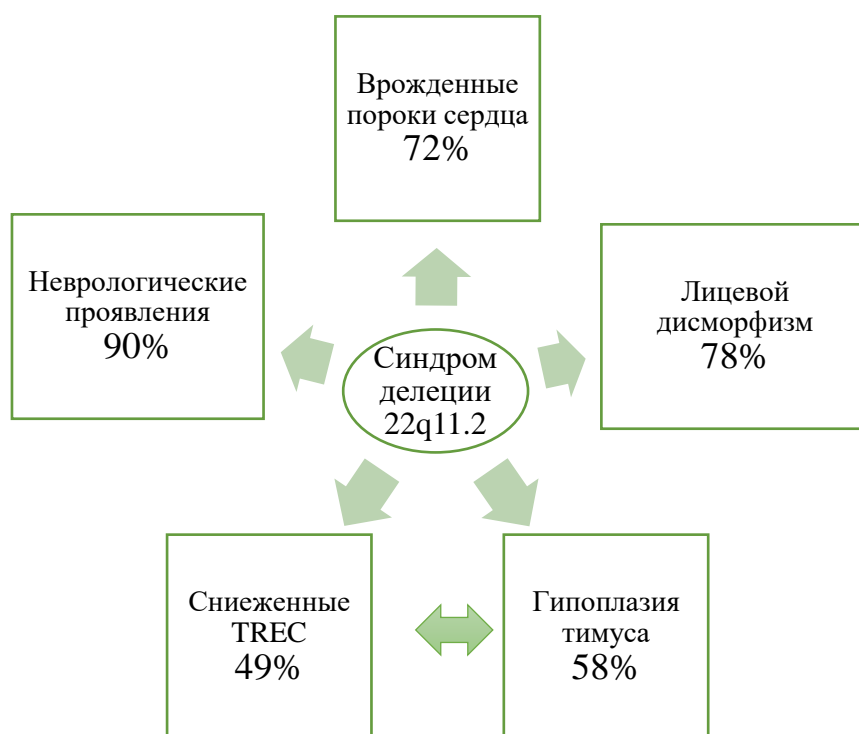


Рисунок 6 – Частота выявления фенотипических признаков синдрома делеции 22q11.2

Как показали результаты нашей работы, патология тимуса имела место в 58% случаев делеции «классического» размера, а аномалии развития верхнего неба – лишь в 27%.

Более частым симптомом были врожденные пороки сердца, которые выявлены у 72% пациентов, при этом различные формы данного порока выявлялись практически в равной степени: дефекты межжелудочковой перегородки (28%), дефекты клапанного аппарата (22%), дефекты магистральных сосудов (22%), дефекты межпредсердной перегородки (11%). Лицевой дисморфизм был не менее частым признаком патологии, он наблюдался у 78% детей анализируемой группы. Психоневрологические отклонения имели место в 90% случаев синдрома делеции 22q11.2.

В рамках проведенной работы, мы получили данные, обуславливающие важность глубокого изучения проблемы первичных иммунодефицитов и врожденных пороков развития, в частности, пороков сердца, которая остро стоит в настоящее время. Первичные иммунодефициты – это болезни, развивающиеся в результате врожденных ошибок иммунитета, которые приводят к нарушению каскадов иммунных реакций, нарушению пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, к нарушениям репарации, а также морфологическим и функциональным порокам. Врожденные пороки сердца – часть симптомокомплекса, сопровождающая первичные иммунодефициты у трети пациентов с ВОИ.

Современное понимание проблем врожденных ошибок иммунитета у детей раннего возраста с врожденными пороками сердца, в частности аспекты, отраженные в данной работе, свидетельствуют о необходимости разработки алгоритмов ведения таких пациентов, что включает организацию и внедрение скринингового амбулаторного дооперационного диагностического обследования новорождённых и детей с врожденными пороками сердца на наличие первичного иммунодефицита, а при выявлении его – проведение соответствующей дооперационной подготовки, а также послеоперационного лечения и реабилитации.

С этой целью диагностический алгоритм должен включать: скрининговое обследование на содержание в образцах крови TREC и KREC, развернутый общий анализ крови, ультразвуковое исследование тимуса, анализ популяционных и субпопуляционных клеточных параметров

лейкоцитов, концентрацию сывороточных иммуноглобулинов; при необходимости пациентам должно проводиться молекулярно–генетическое обследование различными методами.

При наличии клинических показаний также необходимо проведение других лабораторных исследований, спектр которых определяется в зависимости от клинических проявлений.

ВЫВОДЫ

1. Первичные иммунодефициты с врожденными пороками сердца – распространенная патология, встретившаяся в 37% летальных случаев детей с иммунодефицитами.

2. Летальные случаи первичных иммунодефицитов, при которых встречались врожденные пороки сердца, представлены синдромами делеции 22q11.2, дефицита гена *TBX1*, CHARGE-синдромом, Швахмана-Даймонда, Кабуки 1-го и 2-го типов и вариантами хромосомных болезней с тяжелым иммунодефицитом: трисомиями по 18 и 21 хромосомам, моносомией по X-хромосоме.

3. Дети с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца рождались преждевременно в 71,4% летальных случаев; в фенотипических проявлениях – гипоплазия тимуса, сниженные иммунные показатели (TREC и KREC, лейкопении, гипогаммаглобулинемия), бактериальные, вирусные и грибковые поражения, репаративные нарушения; у их матерей во время беременности в большинстве случаев отмечались инфекционные заболевания, анемия и хроническая фетоплацентарная недостаточность.

4. Иммунодефициты и врожденные пороки развития, включающие пороки сердца – причина полиорганной недостаточности, приводящей к летальному исходу.

5. Самая частая нозологическая форма первичного иммунодефицита с врожденными пороками сердца – синдром делеции 22q11.2, составившая 10,9% регионального регистра первичных иммунодефицитов, отличалась

широкой вариабельностью фенотипических проявлений (врожденные пороки сердца – 80% случаев, лицевой дисморфизм – 78%, гипоплазия тимуса – 58%, сниженные значения TREC – 49%, неврологические проявления в 90% случаев).

6. Молекулярно-генетические маркеры лимфопений (TREC и KREC), являются важным диагностическим критерием, позволяющим выделить среди пациентов с врожденными пороками сердца группу риска по первичным иммунодефицитам в кратчайшие сроки, что демонстрирует разработанный нами диагностический алгоритм.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для диагностики первичных иммунодефицитов у пациентов с различными врожденными пороками сердца необходимо проводить количественное определение маркеров наивных Т- и В-лимфоцитов (TREC и KREC), что особенно важно перед планированием хирургических вмешательств и других терапевтических мероприятий, предупредив развитие осложнений своевременным применением патогенетически обоснованной терапии.

2. Для устранения статистических девиаций в заболеваемости детей и ранней детской смертности всем детям с врожденными пороками сердца необходимо проведение диагностических мероприятий по выявлению или исключению наличия врожденных ошибок иммунитета, для чего использовать определение TREC и KREC, как скрининговый метод, а также консультативное участие клинического иммунолога.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ***Публикации в изданиях, рецензируемых ВАК, и в международных реферативных базах данных Scopus и Web of Science***

1. Анализ уровней TREC и KREC в образцах сухой крови новорожденных разного гестационного возраста и веса / Д.А. Чермохин, Х. Шинвари, С.С. Дерябина, М.А. Болков, И.А. Тузанкина, Д.А. Кудлай // Acta Naturae. 2022. Т. 14, № 1 (52), С. 103-108 (ИФ РИНЦ – 2.093; Scopus: Q3 IF – 3.0)

2. Вариативность симптомокомплекса SATCH-22 в рамках синдрома делеции 22q11.2 / Д.А. Чермохин, С.С. Дерябина, И.А. Тузанкина, Е.В. Власова, Н.В. Никитина, М.А. Болков // Медицинская иммунология. 2021. Т. 23, № 6. С. 1357-1366. doi: 10.15789/1563-0625-VOC-2363 (ИФ РИНЦ – 0.827; Scopus: Q4, IF- 0.6).

3. Болков, М.А. Классификация врожденных ошибок иммунитета человека, обновленная экспертами комитета Международного союза иммунологических обществ в 2019 году / М.А. Болков, И.А. Тузанкина, Х. Шинвари, Д.А. Чермохин // Российский иммунологический журнал. 2021. Т. 24, № 1. С. 7-68. doi: 10.46235/1028-7221-975-TIR (ИФ РИНЦ – 0.253; PubMed).

4. Ретроспективный анализ случаев первичных иммунодефицитов у детей с врожденными пороками сердца / С.С. Дерябина, Д.А. Чермохин, И.А. Тузанкина, М.А. Болков, Х. Шинвари // Российский иммунологический журнал. 2020. Т. 23, № 4. С. 505-514. doi: 10.46235/1028-7221-492-ARA (ИФ РИНЦ – 0.253; PubMed).

Монография:

5. Первичные иммунодефициты (врожденные ошибки иммунитета) раннем возрасте: монография / И.А. Тузанкина, С.С. Дерябина, М.А. Болков, Е.В. Власова, Я.М. Крохалева, Д.А. Чермохин, Т.У. Арипова, Д.А. Мусаходжаева, З.С. Камалов. Ташкент: Изд-во «Adast poligraf», 2022. 232 с.

Публикации в других изданиях:

6. Новые достижения генетического анализа иммунной патологии / Д.А. Чермохин, И.А. Тузанкина, С.С. Дерябина, М.А. Болков, Х. Шинвари // Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии: материалы очных

докладов Международной конференции (Екатеринбург, 20 нояб 2020 г.). Екатеринбург, 2020. С. 677-679.

7. Чермохин, Д.А. Количественное определение молекул TREC и KREC при первичных иммунодефицитах у детей с врожденными пороками сердца / Д.А. Чермохин, И.А. Тузанкина, С.С. Дерябина, Х. Шинвари // Механизмы развития патологических процессов и болезней, их фармакологическая коррекция: тезисы докладов III научно-практической конференции с международным участием (Харьков, 09 окт. 2020 г.). Харьков, 2020. С. 319-320.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОИ	врожденные ошибки иммунитета
ВПС	врожденный порок сердца
ОАП	открытый артериальный проток
ООО	открытое овальное окно
ПИД	первичные иммунодефициты
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ХФПН	хроническая фетоплацентарная недостаточность
KREC, kappa deleting recombination excision circle	эписомальная кольцевая молекула ДНК, образующаяся при реаранжировке генов В-клеточного рецептора
TREC, T-cell receptor excision circle	эписомальная кольцевая молекула ДНК, образующаяся при реаранжировке генов Т-клеточного рецептора

ЧЕРЕМОХИН ДМИТРИЙ АНДРЕЕВИЧ

**ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ
У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук