

**Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации**

**Федеральное государственное учреждение науки
Институт иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук**

На правах рукописи

ЧЕРЕМОХИН ДМИТРИЙ АНДРЕЕВИЧ

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология
(3.2.7 - аллергология и иммунология)

Научные руководители:

Тузанкина Ирина Александровна,
доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Черешнев Валерий Александрович
академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Екатеринбург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Врожденные ошибки иммунитета: современные тенденции классификации и диагностики	13
1.2. Роль генетических исследований в диагностике и ведении пациентов с врожденными ошибками иммунитета	19
1.3. Ассоциации между первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца	30
1.4. Возможности методов антенатальной диагностики врожденных ошибок иммунитета с пороками сердца	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	47
2.1. Объем проведенных исследований	47
2.2. Лабораторные методы исследования	50
2.3. Методы статистической обработки данных	52
ГЛАВА 3. ВРОЖДЕННЫЕ ОШИБКИ ИММУНИТЕТА В СТРУКТУРЕ РАННЕЙ ДЕТСКОЙ СМЕРТНОСТИ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ.....	54
ГЛАВА 4. АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ НАИВНЫХ Т- И В- ЛИМФОЦИТОВ (ТРЕС И КРЕС) В ОБРАЗЦАХ СУХОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ С РАЗНЫМ ГЕСТАЦИОННЫМ ВОЗРАСТОМ И ИХ ИНФОРМАТИВНОСТЬ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ	63
ГЛАВА 5. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА	71
ГЛАВА 6. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ СИНДРОМА ДЕЛЕЦИИ 22Q11.2.....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ	117
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	118
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	147

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. При существующем уровне рождаемости в Свердловской области ежегодно появляется около 300 детей с аномалиями развития системы кровообращения [13]. В случае неоказания им специализированной медицинской помощи в первый месяц жизни смертность в этой группе может составлять до 50% и еще 25% в течение 1 года жизни. Имеющийся опыт хирургического лечения детей с врожденными пороками сердца в Центре сердца и сосудов ГБУЗ СО СОКБ №1, позволяет в настоящее время решать самые сложные проблемы детской кардиохирургии по обеспечению специализированной медицинской помощью, в том числе и маловесным новорожденным детям с врожденными пороками сердца (ВПС), которые отнесены в группу риска по другим часто сопутствующим наследственным болезням [2, 4, 20, 18, 22].

В 60% случаев врожденные пороки сердца могут являться частью симптомокомплекса первичных иммунодефицитов [13]. Так, в Свердловской области, среди детей, погибших от тяжелого комбинированного первичного иммунодефицита, было около 30%. В настоящее время первичные иммунодефициты среди детского населения Свердловской области имеют распространенность 1:1998 детей. Пациенты с летальным исходом характеризуются проявлениями грибково-бактериального сепсиса в 20% случаев, генерализованной вирусной инфекцией в 33%, респираторными инфекциями – 26% [14, 15, 23]. Помимо тяжелых вирусно-бактериальных инфекционных осложнений раннего послеоперационного периода после коррекции ВПС у таких детей была нарушена репарация послеоперационной раны, снижена физиологическая толерантность, сопровождающаяся аутоиммунным поражением органов и неконтролируемым системным воспалением. Развитие тяжелых и необратимых послеоперационных осложнений у них сопровождается существенными трудностями ведения в послеоперационном периоде, часто требуя значительных экономических затрат и финансовых вложений на лечение и жизнеобеспечение [17]. Таким

образом, важность раннего дооперационного выявления иммунозависимой патологии у детей с врожденными пороками сердца, равно как и необходимость профилактики данных форм патологии, имеют не только медицинское, но и социально-экономическое значение. Поэтому важна разработка и внедрение дооперационного алгоритма диагностических мероприятий по выявлению иммунодефицита у детей, родившихся 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 тотальный неонатальный скрининг на наличие первичных иммунодефицитов, что позволит уже на доклинической стадии развития заболевания начинать патогенетически обоснованную терапию и формировать группы риска развития послеоперационных осложнений для своевременного предупреждения их развития.

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.

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 маркеров наивных Т- и В-лимфоцитов (TREC и KREC) 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 изучения проблемы первичных иммунодефицитов и врожденных пороков развития, в частности, пороков сердца. Врожденные пороки сердца, являясь одним из частых проявлений наследственных болезней, при первичных иммунодефицитах 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 региональных учреждений здравоохранения Свердловской области «Областная детская клиническая больница» и «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка», используются в работе Областной комиссии Минздрава Свердловской области по разбору детских летальных случаев. Следование разработанному алгоритму при диагностике у детей с врожденными пороками сердца позволило выделить среди них группу пациентов с высоким риском иммунодефицита. Ретроспективно полученные данные о содержании молекул TREC и KREC в образцах сухой крови детей с летальными исходами позволили скорректировать структуру младенческой смертности в Свердловской области.

Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург.

Материалы диссертации включены в учебный процесс по дисциплинам «методы лабораторной диагностики иммунопатологических состояний» и «клинические проявления первичных иммунодефицитов» в рамках аспирантуры по специальности 14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология (3.2.7. Аллергология и иммунология).

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были представлены на конференциях различного уровня: Международный Евро-Азиатский Конгресс по вопросам биоэтики, молекулярной и

персонализированной медицины Biomed-inn-2019 (г. Пермь, 2019), Международная научная конференция Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии OrgChemBioTech2020 (Екатеринбург, 2020), III научно-практическая internet-конференция с международным участием «Механизмы развития патологических процессов и болезней, их фармакологическая коррекция» (Харьков, 2020), I Международный Конгресс «Врач-Пациент-Общество: Иммунитет-2021» (Екатеринбург, 2021), Российская конференция с международным участием «ЭКСПЕРИМЕНАЛЬНАЯ И КОМПЬЮТЕРНАЯ БИОМЕДИЦИНА» (Екатеринбург, 2021), IV-ая Выездная научно-практическая школа-конференция Российского научного общества иммунологов «КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ, АЛЛЕРГОЛОГИЯ И ИНФЕКТОЛОГИЯ» (Республика Кыргызстан, 2021), II Международный конгресс «Врач-Пациент-Общество: Иммунитет-2022» (Екатеринбург, 2022).

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

Методология и методы исследования

Работа выполнена в лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (далее Институт иммунологии и физиологии УрО РАН) в соответствии с программой фундаментальных научных исследований «Иммунологические механизмы онтогенеза человека и их роль в формировании патологических состояний» (№ гос. регистрации – 01201352044) и лаборатории молекулярной диагностики Государственного автономного учреждения Свердловской области «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка» (далее ГАУЗ СО «КДЦ «ОЗМР»).

Для решения поставленных задач были проанализированы результаты обследований 271 ребенка. Им была проведена иммунологическая оценка состояния здоровья, проведен сравнительный анализ клинических и лабораторных данных. 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, дебютировавшими на первом году жизни с врожденными пороками сердца, составляющими 2 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 гестации, родившихся 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. Анализ документов проводился с участием клинических специалистов: врачей неонатологов, иммунологов, генетиков, патологоанатомов.

Для верификации диагноза «первичный иммунодефицит» применялись молекулярно-генетические методы исследования: метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени, метод мультиплексной лигазозависимой амплификации (multiplex ligation dependent probe

amplification, MLPA), метод сравнительной геномной гибридизации, основанной на технологии BACs-on-Beads.

Материалом для исследования маркеров Т- и В-лимфопений, наблюдаемых при ПИД, служили образцы сухих пятен крови новорожденных, родившихся в Свердловской области в 2015-2021 гг, собранные на стандартные фильтровальные карточки 903 Wallac Russia CE Card для проведения рутинного неонатального скрининга.

Математическую обработку данных проводили с использованием методов статистического анализа при помощи пакетов программ MS Office Excel, Statistica 10.0, SPSS Statistic 17.0. Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро-Уилка, для попарного сравнения групп использовали непараметрический критерии Манна-Уитни и Краскелла-Уолиса, для анализа корреляционных зависимостей использовали коэффициент корреляции Спирмана.

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 (синдром ДиДжорджи, велокардиофасциальный синдром, синдром дефицита *TBX1*), CHARGE-синдром, синдром Швахмана-Даймонда, синдром Кабуки 1-го и 2-го типов и хромосомные болезни в вариантах 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 в 72% случаев, лицевой дисморфизм – в 78%, гипоплазией тимуса – в 58%, снижение TREC – в 49%, психическими и неврологическими проявлениями в 90% случаев.

3. Диагностический алгоритм при первичных иммунодефицитах с врожденными пороками сердца, включающий проведение скрининговых программ по выявлению маркеров иммунодефицитных состояний, 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.

Степень достоверности

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.

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.

Отбор пациентов в исследуемые группы осуществлялся совместно с врачами отделения клинической иммунологии Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Областная детская клиническая больница» г. Екатеринбург (далее ГАУЗ СО «ОДКБ», главный врач – О.Ю. Аверьянов).

Лабораторные исследования, включавшие выполнение молекулярно-генетических исследований, проводилась автором совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной диагностики (заведующая лабораторией – к.б.н., врач-лаборант высшей категории С.С. Дерябина): выделение ДНК, количественная оценка TREC и KREC, анализ микроделеции/микродупликации участка q11 хромосомы 22 – на базе ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка» (главный врач – заслуженный врач РФ Е.Б. Николаева).

Анализ медицинской документации осуществлялся при участии врачей отделения медико-генетической консультации ГАУЗ СО «КДЦ «ОЗМР» (заведующая отделением – к.м.н., врач-генетик высшей категории Сумина М.Г.) и отделения клинической иммунологии ГАУЗ СО «ОДКБ» (заведующая отделением – к.м.н., врач-иммунолог Е.В. Власова).

Анализ документации патоморфологических заключений осуществлялся при участии заведующей отделением детской патологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловское областное патологоанатомическое бюро», главного внештатного детского специалиста-патологоанатома Я.М. Крохалевой.

Статистическая обработка данных проводилась автором самостоятельно.

Анализ, систематизация, обобщение литературы по исследуемой проблеме, оформление рукописи диссертации, формулировка положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, представление результатов исследования в виде докладов на конференциях осуществлялись диссертантом лично. Подготовка публикаций по теме диссертации осуществлялась автором совместно с научными руководителями.

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, материалы и методы исследования, 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.

ГЛАВА 1 – ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 – Врожденные ошибки иммунитета: современные тенденции классификации и диагностики

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, так как более важным критерием является не количество новорожденных, а число генетически и физически здоровых людей, способных дать жизнь следующему поколению [25, 77, 102, 117, 154].

ПИД – это генетически детерминированные заболевания, возникающие в результате ВОИ – молекулярно-генетических дефектов, характеризующиеся нарушением реакций иммунной системы, необходимых для поддержания антигенного гомеостаза в организме, что приводит к невозможности развития адекватной воспалительной реакции и, в итоге, к нарушению элиминации чужеродных антигенов, нарушениями системы репарации и других иммунных функций. Основными клиническими проявлениями врожденных ошибок иммунитета являются хронические, рецидивирующие, тяжело протекающие заболевания инфекционной природы, а также аутоиммунные и аутовоспалительные болезни и, возникающие с повышенной частотой, новообразования различной природы [78, 85, 192, 216].

Первыми врожденными ошибками иммунитета, которые были обнаружены еще в первой половине 20 века, являются атаксия-телеангиэктазия, описанная в 1941 году бельгийским врачом Louis-Bar D., и синдром Вискотта-Олдрича (1937) [35, 128]. Однако главным в истории первичных иммунодефицитов является открытие агаммаглобулинемии в 1952 году американским врачом Bruton O.C. [179]. За последние 60 лет изучения этой проблемы было открыто более 500 новых нозологических форм первичных иммунодефицитов [1]. С каждым годом обнаруживаются новые

«генетические ошибки», приводящие к сбою в работе иммунных механизмов организма человека.

Действующая классификация врожденных ошибок иммунитета, предложенная Международным союзом иммунологических обществ (International Union of Immunologic Societies – IUIS 2019), включает более 500 нозологических форм первичных иммунодефицитов (ПИД), которые подразделяются по дефектному звену иммунитета на 10 групп:

1. Иммунодефициты, влияющие на клеточный и гуморальный иммунитет:

a. Тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИН), с CD3 T-клеточной лимфопенией;

b. Комбинированный иммунодефицит, менее тяжелые, чем ТКИН.

2. Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями.

3. Преимущественно дефекты гуморального звена иммунитета.

4. Заболевания иммунной дисрегуляции.

5. Количественные и качественные дефекты фагоцитов.

6. Дефекты врожденного иммунитета.

7. Аутовоспалительные заболевания.

8. Дефекты системы комплемента.

9. Недостаточность костного мозга.

10. Фенокопии ПИД, вызванные соматическими мутациями и аутоантителами [1, 106].

Диагноз первичного иммунодефицита выставляется на основании клинических и лабораторных показателей. Тяжелые формы ПИД сопровождаются яркой клинической картиной развивается чаще всего в течение первых 6 месяцев жизни ребенка, после критического периода иммунной системы, когда истощаются запасы материнского IgG. На первый план выходят острый инфекционный синдром (интерстициальная пневмония

– 48%, рецидивирующие бронхолегочные заболевания – 40%), недоразвитие лимфоидной ткани, а также задержка в развитии [25].

Если классифицировать врожденные ошибки иммунитета как молекулярные дефекты, описано около 450 вариантов ПИД [1, 14, 15, 106]. Несмотря на то, что по идеальному сценарию следует определять специфический молекулярный диагноз для каждого пациента, зачастую это трудно, а в ряде случаев и невозможно, даже для учреждений в технологически продвинутых странах. В нашей реальности число пациентов с неverified ПИД или подозрением на него гораздо выше, чем пациентов с молекулярно подтвержденным диагнозом. Однако к этому необходимо стремиться, используя всевозможные методы диагностики, так как, в конечном итоге, результаты проводимой терапии значительно зависят не только от симптоматического лечения, но и от устранения патогенетически значимой причины [111, 119, 144].

Оптимальный и обоснованный выбор метода лабораторного исследования может стать решающим в постановке окончательного диагноза. Однако зачастую проблемой является не выбор метода, а выбор доступной, не только в финансовом плане, но и в материально-техническом, комбинации исследований с высоким коэффициентом полезного действия. В настоящей реальности принимается факт того, что проточная цитометрия может быть столь же информативной как генетический тест, и что ее можно использовать для диагностики почти всех известных ПИД. Хотя цитофлуориметрия и является широко используемой технологией в большинстве стран, ее цена остается лимитирующим фактором, и доступ, как правило, ограничивается классическими маркерами, такими как CD3, CD4, CD8 и CD19, которые являются единственными маркерами, используемыми большинством систем здравоохранения [31, 83, 95, 208]. Даже в специализированных диагностических лабораториях, занимающихся диагностикой ПИД, количество тестов ограничено. Эта же проблема относится и к другим информативным методам, таким как тесты на основе иммуноферментного

анализа. Определение концентрации иммуноглобулинов – одно из немногих исследований, к которым можно легко получить доступ в большинстве лабораторий, и это может быть достаточно информативным для большей части первичных иммунодефицитов, так как далеко не все пациенты с ПИД не имеют антител, а большинство вариантов ТКИН и многие другие нозологические формы, приводящие к летальным исходам, могут характеризоваться измененными уровнями иммуноглобулинов [132, 135]. Другие, более специализированные тесты, основанные на технологии FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting – клеточного сортирования, основанного на флуоресценции), используемые при диагностике пациентов с более орфанными формами ПИД, довольно редко можно встретить в лабораториях, которые и могут быть даже оснащены всем необходимым оборудованием. И хотя образцы иногда можно отправлять в другие лаборатории, это может быть сложно с точки зрения логистики. Основная проблема, связанная с этим, заключается в том, что отправка образцов крови имеет ограничения возможности транспортировки, поскольку большинство этих методов требуют образцов крови с функционально активными клетками и, как правило, обрабатываются в течение первых 12 часов для достижения надежного результата (например, исследования фагоцитоза или анализ лимфопрлиферации) [7].

За последние несколько лет методы высокопроизводительного секвенирования стали революцией в диагностике различных болезней, не только выявляя новые генотипы, но и позволяя генетической диагностике стать более доступной и быстрой [165]. Это особенно важно для тех заболеваний, при которых не только генетическая, но и фенотипическая неоднородность является характерным свойством, при этом ПИД не являются исключением [138]. Несмотря на то, что технология существует уже как минимум десятилетие, в медицинской сфере она стала широко применяться только благодаря разработкам, приведшим к значительному снижению затрат не только на аппаратное и программное обеспечение, но и стоимости

реактивов и расходных материалов процесса. В настоящее время специализированные центры по диагностике наследственных болезней, как правило, могут себе позволить внедрить подобные методы исследования, однако помимо оборудования, расходных материалов и реагентов, также важным фактором является компетентность персонала. По факту, основным решением на данном этапе технологического развития является создание глобальных сетевых отношений между крупными федеральными и региональными центрами, где можно обсуждать сложные случаи в режиме реального времени [148]. Способствующим фактором является то, что требования к диагностическим тестам, основанным на анализе нуклеиновых кислот, обычно менее жесткие благодаря стабильности ДНК и тому факту, что ее можно обрабатывать в более широком временном интервале, что делает технологию возможным вариантом для постановки окончательного молекулярного диагноза. Следует подчеркнуть, что диагностическая полезность секвенирования следующего поколения (NGS), в первую очередь, зависит от качественной клинической и лабораторной оценки [206]. На данный момент, мы сталкиваемся с очень непростой проблемой – недостатком знаний и осведомленности о врожденных ошибках иммунитета, следовательно, остается значительная трудность распознавания типичных особенностей ПИД, а отсутствие лабораторных инструментов для точного определения диагноза у конкретного пациента, может приводить к тому, что получение информативного результата при использовании NGS, будет недостаточно удовлетворяющим диагностический процесс. Принимая это во внимание, ключевыми задачами сегодняшнего дня является увеличение осведомленности, образования и коллегиальной работы в медицинской практике. Получение как можно большего количества информации о пациенте уменьшит потребность в большом объеме сложных лабораторных исследований и, как правило, позволит адекватно сформировать диагноз подтипов ПИД, то есть необходим качественный сбор и интерпретация анамнестических данных.

Логично предположить что, повсеместное использование методов полноэкзомного или полногеномного секвенирования, позволит сократить время на поиск причины наследственной патологии, однако в современных условиях это трудно достижимо, в виду финансово-экономических причин, и мало обосновано в виду низкой осведомленности о фенотипических проявлениях манифестации заболеваний и их транзиторных вариантов.

Важным продвижением в диагностике часто встречающихся болезней является внедрение массовых скрининговых программ. Такие программы позволяют выделять группу риска по определяемому заболеванию, которую активно мониторируют врачи-специалисты. Неонатальный скрининг – инструмент, сигнализирующий родителям и медицинским работникам о необходимости обратить внимание на фенотип ребенка в настоящем, не пропуская манифестацию заболевания в будущем.

Для диагностики тяжелой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН) была разработана методика определения внеядерных кольцевых структур ДНК, образующихся в ходе формирования Т-клеточного (TREC – T-cell receptor excision circle) и В-клеточного (KREC – kappa-deleting recombination excision circle) рецепторов [172, 196, 197].

Молекула TREC – это побочный продукт формирования Т-клеточного рецептора, образующийся в процессе случайной рекомбинации и сплайсинга генов рецептора, в результате чего образуется функциональный экзон и молекула TREC. Неонатальное тестирование путем определения уровня TREC позволяет сформировать группу риска как по ТКИН, так и по другим болезням, связанным с нарушениями в Т-клеточном звене иммунной системы [167].

KREC – аналог кольцевой структуры TREC, образующийся в процессе сборки В-клеточного рецептора, в частности, при формировании вариабельной части иммуноглобулинов. Тестирование новорожденных на KREC также является перспективным методом диагностики дефектов созревания В-клеток [147].

1.2 – Роль генетических исследований в диагностике и ведении пациентов с врожденными ошибками иммунитета

Первая патогенетическая причина первичного иммунодефицита (ПИД) была идентифицирована в 1972 году, когда Роберт Гуд (Robert A. Good) случайно обнаружил, что отсутствие аденозиндезаминазы приводит к тяжелой комбинированной иммунной недостаточности. Впоследствии достижения в области иммунологии и технологий генетических исследований привели к экспоненциальному открытию причин первичных иммунодефицитов, так что в настоящее время распознано более 450 генетических причин [89, 141, 190]. Поэтому идентификация молекулярной причины с помощью генетического анализа в настоящее время занимает ведущую позицию в диагностике и лечении ПИД.

По мере того, как методы диагностики врожденных ошибок иммунитета (ВОИ) совершенствовались с течением времени, улучшалось как понимание естественного течения различных состояний, так и разработка необходимых терапевтических стратегий. Из-за накопленного пула знаний о ПИД нельзя недооценивать значение генетического обследования пациентов и их семей. Примечательно именно то, что генетическое тестирование влияет на принятие клинических решений не менее чем в четырех ключевых аспектах [57].

Во-первых, молекулярная диагностика позволяет осуществлять информированное планирование семьи в отношении риска рецидива заболевания у будущего потомства. В зависимости от генетического дефекта семьи могут быть проконсультированы и наделены полномочиями принимать решения о дальнейшем пополнении в семье. Кроме того, члены семьи могут быть предупреждены и протестированы по мере необходимости.

Во-вторых, генетическое тестирование облегчает пренатальную диагностику, что позволяет врачам оптимизировать подготовку к послеродовому уходу. Например, младенцы с генетическими изменениями, приводящими к серьезным иммунным дефектам, могут быть помещены в специализированные подразделения лечебно-профилактических учреждений

сразу после родов и находиться под более тщательным наблюдением. Кроме того, при состояниях (например, тяжелом комбинированном иммунодефиците), при которых известно, что трансплантация гемопоэтических стволовых клеток в раннем возрасте имеет решающее значение для выживаемости и улучшения качества жизни, процесс трансплантации можно ускорить, начав обеспечение лабораторным тестированием еще до рождения ребенка. В случае рождения детей с ВОИ, по результатам антенатального тестирования, родственники могут быть подготовлены к предстоящим радикальным и паллиативным мероприятиям. Поскольку медицинская наука продолжает развиваться, пренатальная диагностика также будет способствовать более широкому развитию и использованию таких вмешательств, как внутриутробная трансплантация стволовых клеток и внутриутробная генная терапия.

В-третьих, идентификация конкретной молекулярной причины облегчает прогнозирование клинического течения, включая возможные осложнения. Для ПИД с установленными корреляциями генотип-фенотип подтверждение генетического дефекта может помочь прогнозировать тяжесть заболевания. Это также позволяет клиницистам обсуждать оценки долгосрочной выживаемости с семьей и предлагать вмешательства для увеличения продолжительности жизни. Медицинские работники и семья могут быть подготовлены к устранению известных факторов, влияющих на качество жизни. Возможна реализация мер, направленных на усиление мониторинга вторичных осложнений, характерных для конкретной болезни, предупреждая их развитие.

Наконец, наличие генетического диагноза определяет выбор патогенетически обоснованных терапевтических подходов. При необходимости возможно своевременное применение радикальных (трансплантация гемопоэтических стволовых клеток) или паллиативных методов лечения. Знание молекулярной причины также может повлиять на сам подход к трансплантации, включая выбор донора и терапевтической

стратегии. Кроме того, быстро разрабатываются целевые биологические соединения для лечения ПИД, а понимание генетического дефекта способствует выбору оптимального препарата. Хотя в настоящее время генная терапия по большей части все еще остается экспериментальной, клиническое применение для некоторых ПИД представляется неизбежным и единственно возможным куративным методом лечения.

В настоящее время в диагностическом арсенале имеется целый ряд генетических тестов, которые могут быть применены при обследовании пациентов с ПИД и членов их семей. Все эти тесты обладают присущими им преимуществами и ограничениями.

Хромосомный анализ

Этот метод, также известный как кариотипирование, часто используется для обнаружения генетических дефектов, которые охватывают большие участки хромосомного материала. Тест проводится путем остановки делящихся клеток на стадии метафазы клеточного цикла и непосредственного наблюдения увеличенных изображений хромосом. Красители добавляются для маркировки хромосомных полос (бендов), что позволяет идентифицировать определенные хромосомы и грубые структурные аномалии.

Хромосомный анализ имеет важные преимущества и ограничения. Что касается сильных сторон, он позволяет непосредственно наблюдать за генетическим материалом, а также он является достаточно бюджетным. Таким образом, этот тест может быть успешно применен для выявления грубых дефектов, таких как анеуплоидии или транслокации. Однако он не может обнаруживать субмикроскопические изменения [215].

Флуоресцентная гибридизация *in situ*

Метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (или FISH-метод) является важным инструментом для верификации пациентов с ПИД. Техника классически выполняется путем фиксации делящихся клеток на предметном стекле микроскопа. Затем добавляют флуоресцентные зонды,

предназначенные для гибридизации со специфическими геномными последовательностями. Генетический материал непосредственно визуализируются с помощью флуоресцентной микроскопии для оценки количества зондов, гибридизированных в каждом ядре, и проверки соответствующего хромосомного положения для каждого зонда.

Анализ FISH обладает ключевыми внутренними преимуществами и ограничениями. Он обеспечивает более точное обнаружение изменений количества копий для интересующего локуса, чем хромосомный анализ, но одновременно можно оценить только несколько локусов. Для некоторых генетических изменений необходимый зонд может отсутствовать. Одиночные нуклеотидные варианты и другие небольшие генетические изменения также не могут быть обнаружены с помощью данного метода [79].

Хромосомный микроматричный анализ

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) предполагает использование матрицы сравнительной геномной гибридизации (CGH – comparative genomic hybridization), гибридизации матрицы однонуклеотидного полиморфизма (SNP) или комбинации обоих методов. В CGH тысячи ДНК-зондов, охватывающих всю длину всех хромосом человека, размещены на микрочипе. Затем на чип наносят фрагменты ДНК пациента и эталонной геномной ДНК, помеченные различными флуоресцентными красителями. Чип считывается сканером, который измеряет интенсивность флуоресценции каждого фрагмента ДНК, гибридизовавшегося с родственным ему зондом. Затем рассчитываются отношения интенсивностей флуоресценции связывания ДНК пациента с эталонными образцами. В массивах SNP флуоресцентно меченные фрагменты геномной ДНК пациента гибридизуются с зондами, нацеленными на миллионы однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Связывание ДНК с зондами затем обнаруживается ридером [62, 110, 129, 164, 167, 202].

ХМА обладает важными преимуществами и ограничениями в качестве генетического теста. Важно отметить, что он позволяет обнаруживать

варианты числа копий (CNV) и наиболее несбалансированные перестройки структуры хромосом. Массивы SNP могут дополнительно обнаруживать отсутствие/наличие гетерозиготности. ХМА позволяет обнаружить субмикроскопические делеции и дупликации, которые будут пропущены хромосомным анализом или FISH, и, как правило, имеет более короткое время исследования по сравнению с хромосомным анализом. С точки зрения ограничений, ХМА не предназначена для обнаружения CNV, очень небольших вставок или делеций ДНК (indels) или структурных вариантов с нейтральным числом копий [32, 42, 68, 99, 195].

Анализ ампликонов с помощью секвенирования по Сэнгеру

Подход Сэнгера к секвенированию нуклеиновых кислот существует уже более четырех десятилетий. Этот метод включает амплификацию целевой области геномной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции. Во время синтеза новых цепей ДНК случайным образом включаются дифференциально меченые дидезоксинуклеотиды (ddNTP), что предотвращает дальнейшее добавление нуклеотидов и прекращает удлинение цепей ДНК. Таким образом, создаются и сортируются по молекулярной массе несколько цепей ДНК различной длины. Последовательность читается путем размещения терминирующих ddNTP для каждой нити в порядке от самой длинной к самой короткой.

Как и другие генетические исследования, секвенирование по Сэнгеру имеет сильные и слабые стороны. Из-за высокой точности секвенирование по Сэнгеру считается золотым стандартом для проверки генетических вариаций. Кроме того, благодаря возможности создания специфических праймеров для ПЦР секвенирование по Сэнгеру дает возможность анализировать области генома, плохо охваченные секвенированием следующего поколения (NGS). С другой стороны, секвенирование по Сэнгеру характеризуется ограниченным числом нуклеотидов, которые могут быть проанализированы за один раз, что может представлять трудности из-за значительной гетерогенности локуса, известной для многих фенотипов ПИД. Кроме того, будут протестированы

только указанные гены или их области, а в некоторых клинических лабораториях секвенируются только части представляющих интерес генов, а не весь ген. Секвенирование по Сэнгеру может пропустить вариант, если аномальный аллель не амплифицируется во время реакции ПЦР, явление, известное как выпадение аллеля. Наконец, секвенирование по Сэнгеру может не выявить мозаицизм [170, 177, 202].

Панели генов методом массивного параллельного секвенирования

Панели генов для секвенирования следующего поколения облегчают одновременный анализ нескольких генов с высокой производительностью. Современная технология использует методы гибридизации для захвата предварительно выбранных экзонных и иногда интронных областей. Короче говоря, зонды предназначены для захвата частей ДНК, содержащих эти области, и последующего связывания либо с микрочипом, либо с микросферами. Фрагментированная геномная ДНК пациента может гибридизоваться с зондами. Захваченные фрагменты ДНК затем амплифицируют с помощью ПЦР и секвенируют. Следует отметить, что в некоторых лабораториях генные панели не выполняются с использованием таких специально разработанных зондов. Вместо этого эти панели генов просто отражают целенаправленный анализ секвенирования всего экзома (WES – whole exom sequencing).

Тестирование генной панели следующего поколения имеет явные преимущества и недостатки, особенно по сравнению с секвенированием по Сэнгеру и WES. По сравнению с секвенированием по Сэнгеру, генная панель предлагает более быстрый и экономичный подход к анализу нескольких генов. Он также служит отличным методом оценки мозаицизма, в отличие от секвенирования по Сэнгеру. На данный момент анализ панели остается менее дорогим, чем WES. Еще одно преимущество по сравнению с WES заключается в том, что специально разработанные генные панели обеспечивают большую глубину считывания и расширенный охват, что обеспечивает большую чувствительность. Однако с точки зрения ограничений генные панели

оценивают только те части генома, которые захвачены зондами. Таким образом, патогенные варианты в областях генов, ассоциированных с ВОИ, недостаточно покрыты и в генах, еще не связанных с наблюдаемым фенотипом у пациента, могут быть упущены. Генные панели не предназначены для выявления наличия крупных копийных и структурных вариаций, хотя большая глубина считывания специально разработанных панелей иногда может свидетельствовать о наличии CNV. Эти биоинформационные подходы еще не прошли валидацию для клинического применения. Наконец, генные панели ограничивают идентификацию новых генетических дефектов или генов, о которых ранее не было известно [28, 60, 61, 87, 202].

Полэкзомное секвенирование

Полноэкзомное секвенирование (WES – whole exome sequencing) было разработано для оценки кодирующих областей всех известных генов в геноме. Поскольку экзоны охватывают только 1-2% геномного материала, этот подход облегчает целесообразно широкое и непредвзятое геномное тестирование. Следует отметить, что термин «секвенирование всего экзома» в настоящее время не одобряется по сравнению с «секвенированием экзома», потому что 100% экзома не может быть секвенировано современными методами. Подобно тестированию генной панели, библиотека зондов предназначена для захвата кодирующих областей генома. Затем фрагментированная ДНК пациента гибридизуется с зондами, амплифицируется и секвенируется. Прочтения секвенирования выравниваются *in silico* и сопоставляются с эталонным геномом человека, а варианты отмечаются всякий раз, когда последовательность ДНК пациента отличается от эталонной последовательности.

WES предоставляет мощный инструмент для геномного анализа, но также имеет ограничения. По сравнению с секвенированием генома WES предлагает более продуктивный и эффективный подход. WES также становится все более рентабельным, поскольку технологии и аналитические

платформы продолжают развиваться. Возможность безгипотезного обнаружения вариантов, вызывающих заболевание в новых генах, дает WES явное преимущество перед секвенированием по Сэнгеру и генными панелями. Напротив, поскольку полноэкзомное секвенирование не покрывает весь геном или даже 100% экзома, можно пропустить патогенные варианты, которые могут быть лучше обнаружены с помощью секвенирования по Сэнгеру или специально разработанных генных панелей. Также, хотя в идеале все экзонные регионы должны быть захвачены одинаково, процесс остается неравномерным, что приводит к смещению из-за различного количества прочтений одной области. Таким образом, точность WES остается ниже точности секвенирования по Сэнгеру, хотя большее количество правильно выровненных прочтений последовательности в любом заданном положении варианта увеличивает вероятность того, что он был определен правильно. Важно отметить, что WES не предназначен для обнаружения структурных вариаций и CNV, которые лучше фиксируются другими методами, такими как ХМА. Наконец, в то время как комплексный подход WES дает расширенные диагностические возможности, он также позволяет получить вторичные результаты, не связанные с первоначальной целью тестирования. Эти открытия могут привести к психологическому стрессу для семей и неадекватным дополнительным тестам [89, 96].

Секвенирование генома

В отличие от WES секвенирование генома (WGS, whole genome sequencing) используется для секвенирования всего генетического материала. Он выполняется аналогично WES, за исключением этапа зондирования областей. Вместо этого фрагментированная геномная ДНК пациента секвенируется с использованием технологии синтеза последовательности в сочетании с секвенированием отдельных молекул в реальном времени или синтетическим секвенированием с длительным считыванием. Затем геномная последовательность конструируется компьютерным путем сборки генома *de novo*.

Секвенирование генома имеет много сильных сторон, но текущие ограничения не позволяют рекомендовать его использование в клинических условиях. В качестве преимущества секвенирование генома предлагает комплексный подход WES с дополнительным охватом некодирующих областей. Кроме того, отсутствие этапа захвата и обогащения экзона сводит к минимуму систематическую ошибку и сокращает время обработки. Полученная в результате однородная глубина считывания позволяет лучше обнаруживать CNV. Секвенирование генома также обеспечивает хорошее разрешение сложных областей генома, таких как нейтральные к копиям структурные варианты, которые трудно идентифицировать с помощью хромосомного микроматричного анализа. И наоборот, хотя затраты продолжают снижаться, секвенирование генома в настоящее время остается гораздо более дорогим, чем любой из других методов генетического исследования, обсуждавшихся ранее, и тест обычно не оплачивается сторонними плательщиками. Анализ данных представляет собой серьезную проблему, и время обработки результатов в настоящее время очень велико. Что касается вариантов с неопределенной значимостью и вторичных результатов, секвенирование генома дает значительно больше того и другого, чем WES [86, 89].

Применимость методов молекулярной генетики для диагностики первичных иммунодефицитов

В одном из исследований в когорте из почти 280 семей с ПИД по клиническому анамнезу или иммунологической оценке и охватывающей 10 различных категорий, использование WES и ХМА подтвердило наличие генетической причины в 40% [155]. Наибольшая диагностическая ценность отмечена у пациентов с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (100%), недостаточностью костного мозга (55%) и синдромальными ПИД (53%). Самый низкий выход был зарегистрирован у пациентов с аутовоспалением (13%). Для некоторых ПИД, таких как ОВИН, одного

геномного подхода может быть недостаточно. Поэтому в определенных ситуациях могут быть рекомендованы различные генетические тесты.

Хромосомный анализ следует рассматривать при подозрении на синдромальный иммунодефицит [202]. Состояния, вызванные этими грубыми генетическими аномалиями, остаются плохо распознаваемыми и недооцененными в качестве основных причин иммунодефицита. Следует отметить, что хромосомному анализу более предпочтительно использовать ХМА для выявления большинства из этих синдромов [41].

Секвенирование по Сэнгеру следует рассматривать как диагностический тест первого уровня у пациента, фенотип которого соответствует классической картине хорошо описанного моногенного ПИД.

Для оценки любого ПИД с высокой генетической гетерогенностью следует рассмотреть возможность тестирования панели генов следующего поколения, при которой стоимость секвенирования по Сэнгеру отдельных генов, связанных с заболеванием, превышает стоимость панели. Его также можно использовать в качестве начального диагностического теста, когда клинический и иммунологический фенотип четко указывает на конкретную категорию ПИД, которая содержит четко определенные генетические диагнозы. Наконец, при необходимости оценки мозаицизма можно использовать генную панель.

Полноэкзомное секвенирование обеспечивает неоспоримую пользу при оценке и лечении пациентов с ПИД [202]. Было показано, что использование полноэкзомного секвенирования приводит к значительным изменениям в лечении 25% случаев ПИД [155]. WES необходим даже для четко определенных фенотипов ПИД, особенно тех, которые вызваны различными патофизиологическими механизмами. Например, в недавнем исследовании более 100 пациентов с диагнозом гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ГЛГ) целевое секвенирование по Сэнгеру и панельное секвенирование обычных генов, вызывающих ГЛГ, выявили генетические дефекты только в 19%

случаев, в то время как более широкий анализ с помощью WES увеличил выход для вероятных генетических объяснений по крайней мере до 46% [98].

Хотя секвенирование генома в настоящее время не используется широко не только при оценке пациентов с ПИД, но и в общем плане, ожидается, что в будущем оно станет более рутинным, поскольку обсуждаемые ограничения со временем будут устранены. Секвенирование генома следует рассматривать, когда генетический диагноз не подтвержден у пациента с ПИД после тестирования с помощью WES и ХМА. В противном случае в настоящее время по-прежнему трудно рассматривать секвенирование генома как диагностический тест первого уровня для ПИД.

Интерпретация вариантов, обнаруженных при помощи методов секвенирования

Варианты, выявленные с помощью генетического тестирования, попадают в одну из пяти категорий в соответствии с рекомендациями и стандартами, установленными Американским колледжем медицинской генетики и геномики. Патогенные варианты четко определены как причина развития заболевания. Вероятные патогенные варианты, с другой стороны, обладают характеристиками, которые поддерживают вероятность патогенности, но не имеют убедительных доказательств. Варианты неопределенной значимости не имеют достаточных доказательств, чтобы предположить, что они являются либо патогенными, либо доброкачественными. Для вероятных доброкачественных вариантов большинство данных указывает на то, что они не вызывают заболевания. Между тем, доброкачественные варианты обладают убедительными доказательствами того, что они не вызывают заболевания. Для любых вариантов, обозначенных как патогенные или вероятно патогенные, клиницисты должны убедиться, что фенотип пациента соответствует ПИД, связанному с вовлеченным геном. Хотя установление молекулярного диагноза может оправдать выбор подходящей терапии, решения по лечению должны включать как молекулярные, так и клинические данные [181].

Отрицательные или неопределенные результаты также следует интерпретировать с осторожностью. Отсутствие молекулярного диагноза после генетического тестирования не обязательно означает, что заболевание не является генетическим, и необходимо учитывать ограничения каждого метода. Кроме того, варианты с неопределенной значимостью не следует рассматривать как требующие принятия мер без дополнительных доказательств, подтверждающих или исключающих их патогенность.

Однако необходимо всегда помнить о том, что в настоящее время принято считать, что гены не обладают настолько превелигированными свойствами, которыми их наделил так называемый генетический детерминизм. Безусловно, в ходе ведения пациентов важно использовать персонализированный подход. Несмотря на это, персонализированная медицина не является «генетической» и не должна претендовать на нее. Фактически, вера в детерминированную силу генов никогда не исходила из эмпирической базы. Ничто из того, что мы знаем из биологии в целом или из биологии развития в частности, никогда не поддерживало существование командного центра внутри клеток, который контролирует развитие. Вера в детерминированный ген с самого начала была программной и излишне переосмысленной [97]. Генетическое заключение – не является диагнозом, также как отсутствие наследственных нарушений не является поводом говорить о том, что человек здоров. Диагноз – это комплекс проявлений, являющихся следствием единого патологического процесса, а не «замена G на C в N-ом положении».

1.3 – Ассоциации между первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца

Известно, что дети с врожденными пороками сердца восприимчивы к серьезным инфекционным заболеваниям, особенно к поражениям дыхательного тракта, эндокарда и мозговых оболочек [8]. Одной из главных патогенетических причин данного явления ранее считали гемодинамические

нарушения, однако в последнее время, благодаря новым технологиям и расширению знаний в области кардиологии, иммунологии и генетики выяснилось, что врожденный порок сердца у таких детей может являться маркером первичного иммунодефицита, характеризующегося изменениями клеточных и гуморальных параметров иммунитета. В литературных данных есть немало описанных случаев гипогаммаглобулинемии и лимфоцитопении у пациентов с конотрункальными пороками сердца [36, 49, 65, 113].

Впервые взаимосвязь между врожденными пороками сердца и первичными иммунодефицитами была отражена в случаях синдрома ДиДжорджи, обусловленная наличием делеции 22 хромосомы (22q11.2), которая характеризуется врожденными пороками сердца, лицевым дисморфизмом, гипоплазией тимуса, расщелиной неба и гипокальциемией (САН-22) [121]. На сегодняшний день зарегистрировано более десятка таких синдромов, зачастую ПИД у таких детей скрывается за клинической картиной гемодинамических нарушений и ускользает от взора врача-педиатра или кардиолога. Особенное место занимают случаи тяжелого течения постоперационного периода: долго незаживающие послеоперационные раны и септические нарушения, приводящие к летальному исходу. Под причинно-значимым фактором здесь вполне могут скрываться проблемы процессов репарации, в которых иммунная система как раз и является одним из ключевых регуляторов. Однако не всегда ВПС являются частью симптомокомплекса синдрома ПИД, не исключается возможность сочетанной иммунной и сердечно-сосудистой патологии.

Иммунная система сложна структурно, функционально и в своих связях с другими системами при обеспечении центральных регуляторных задач, поэтому в современном мире ее не принято рассматривать как отдельную систему. Современные научные знания свидетельствуют о том, что патогенетические основы большинства заболеваний сводятся к нарушениям глобальной нейроиммуноэндокринной системы (НЭИм). С позиции данной теории иммунная система – есть один из ключевых регуляторов

макромолекулярного гомеостаза и дирижер клеточного реагирования на внешние и внутренние факторы. Несмотря на то, что все иммунологические параметры взаимозависимы друг с другом, можно выделить четыре основных компонента: Т-клеточный иммунный ответ, В-клеточный ответ, фагоцитоз и система комплемента [72, 118].

Хотя четыре основных компонента иммунной системы работают согласованно в ответ на любые внешние раздражители, в зависимости от его вида в ходе иммунного ответа тот или иной компонент может играть более ведущую роль. В связи с этим до недавних времен считалось, что клинические и экспериментальные наблюдения показывают, что пациенты с дефицитом Т-клеток подвержены развитию распространенных форм инфекционных заболеваний вирусной, грибковой и паразитарной этиологии, люди с дефицитом В-клеток страдают от тяжелых инфекций респираторного тракта, у пациентов с фагоцитарными нарушениями, как правило, имеют место кожные и глубокие абсцессы, при дефицитах комплемента наблюдается склонность к развитию нейссерияльных инфекций [104, 126, 142, 145, 175]. В настоящее время, с развитием иммунологии и генетики, эти знания значительно расширились.

Одной из наиважнейших проблем сегодняшнего времени является обеспечение ранней диагностики заболеваний, в том числе сочетанных форм первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца. Эти дети зачастую не доживают и до двухлетнего возраста. ПИД у таких детей скрывается за клинической картиной гемодинамических нарушений и ускользает от взора врача педиатра или кардиолога. Особенное место занимают случаи тяжелейшего течения послеоперационного периода, долго незаживающие послеоперационные раны, где причинно-значимыми могут быть проблемы в процессах репарации, в которых иммунная система занимает далеко не последнее место, а является одной из ключевых регуляторов и участников обеспечения процессов барьерной защиты, дифференцировки клеток, формирования специфического микроокружения при заживлении ран,

репарации тканей, предупреждая развитие септического процесса, которые могут привести к летальным исходам.

Принято считать, что важнейшими аспектами развития болезни являются наследственность и взаимодействие с окружающей средой. В литературных данных рядом авторов представлена информация о наследственных заболеваниях, характеризующихся ВПС, которые являются следствием нуклеотидных и хромосомных аномалий (таблица 1).

Таблица 1 – Врожденные пороки сердца при наследственных заболеваниях

Синдром	Врожденный порок сердца	Доля пациентов в группе с врожденными пороками сердца, %	№ источника в списке литературы
Синдром Вольфа-Хиршхорна (делеция 4p)	ДМПП, ДМЖП, ОАП, ДЛВПВ, атрезия аорты, декстракардия, тетрада Фалло, атрезия трикуспидального клапана	50-65	58, 217
Синдром Криду-Чат (делеция 5p)	ДМЖП, ДМПП, ОАП	30-60	50, 58, 209
Синдром Вильма-Бюрена (делеция 7q11.23)	Надклапанный стеноз аорты/ легочной артерии, периферический стеноз легочной артерии	53-85	48, 75, 79
Синдром трисомии хромосомы 8	ДМЖП, ОАП, коарктация аорты, стеноз легочной артерии, общий артериальный ствол	25	40, 58, 168, 199, 200
Синдром делеции 8p	ДМЖП, стеноз легочной артерии, ДМЖП, тетрада Фалло	50-75	71, 74, 137
Синдром трисомии хромосомы 9	ОАП, ДЛВПВ, ДМЖП, тетрада Фалло, правый желудочек с двумя выходами	65-80	58, 209
Синдром ДиДжорджи тип 2 (делеция 10p13-p14)	Двустворчатый аортальный клапан, ДМПП, ДМЖП, ОАП, стеноз легочной артерии, коарктация аорты, общий артериальный ствол	50	58, 73, 80
Синдром Якобсена (делеция 11q)	СГЛС, стеноз аорты, коарктация аорты, синдром Шона	56	189
Синдром Патау (трисомия хромосомы 13)	ДМПП, ДМЖП, ОАП, СГЛС, латеральные дефекты, предсердный изомеризм	80	39, 210

Синдром Эдвардса (трисомия хромосомы 18)	ДМПП, ДМЖП, ОАП, тетрада Фалло, правый желудочек с двумя выходами, правостороннее положение магистральных сосудов, коарктация аорты, двустворчатый аортальный клапан, двустворчатый клапан легочной артерии, поливальвулярная узелковая гипоплазия	90-100	46, 58, 63
Синдром Аллагиле (делеция 20p12)	Периферический стеноз аорты, тетрада Фалло, стеноз легочной артерии (преимущественно поражаются правые отделы сердца)	85-94	33, 183
Синдром Дауна (трисомия хромосомы 21)	ДПЖП, ДМЖП, ДМПП (тетрада Фалло, ТМС – менее специфичны)	40-50	58, 100, 116, 123, 146, 159, 203
Синдром ДиДжорджи (делеция 22q11)	Коарктация аорты (тип В) общий артериальный ствол, аномалии аорты, тетрада Фалло, ДМЖП	75	180, 194
Дефицит TBX1		нд	-
Синдром Шерешевского-Тернера (моносомия хромосомы X)	Коарктация аорты, двустворчатый аортальный клапан, клапанный стеноз аорты, СГЛС, расслоение аорты	25-35	34, 58, 124, 130, 134, 201
Синдром Клайнфельтера (47, XXY)	Пролапс митрального клапана, венозная тромбоэмболическая болезнь, ОАП, ДМПП	50	58, 207
Синдром Кабуки 1 (недостаточность KMT2D) и 2 типа (недостаточность KDM6A)	ДМЖП, ДМПП, двустворчатый аортальный клапан, атривентрикулярный клапанный пролапс, коарктация аорты, добавочная левая верхняя полая вена, СГЛС	28-80	64
CHARGE-синдром	ДПЖП, ОАП, обструкция левого/правого желудочка, дефекты оттока	66-92	69
Дефицит G6PC3	ДМПП, ОАП, недостаточность митрального клапана	75-80	38
Дефицит MST1	ДМПП, гипоплазия сердечной ткани вследствие апоптоза кардиомиоцитов (на мышинной модели)	?	47, 193
Синдром Швахмана-Даймонда	ДПЖП, ДМПП, коарктация аорты, тетрада Фалло, деляционная кардиомиопатия	10-15	48

Примечание: ДМПП – дефект межпредсердной перегородки, ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки, ОАП – общий аортальный проток, ДЛВПВ – добавочная левая верхняя полая вена, ТМС – транспозиция магистральных сосудов, СГЛС – синдром гипоплазии левых отделов сердца.

Следует заметить, что из двадцати нозологических синдромов, имеющих в симптомокомплексе ВПС, в настоящее время 8 относят к группе первичных иммунодефицитов, а еще 4 - хромосомные аномалии, в своих клинических проявлениях имеющие иммунодефицит (таблица 2) [15].

Таблица 2 – Первичные иммунодефициты с врожденными пороками сердца в фенотипе

Классические врожденные ошибки иммунитета	№ п/п	Название ПИД	Группа	Иммунологические нарушения
	1	Синдром ДиДжорджи	Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями – дефекты тимуса с другими врожденными аномалиями	Гипо-/ аплазия тимуса, сниженное количество CD3 ⁺ -клеток
	2	Дефицит TBX1		
	3	Синдром ДиДжорджи тип 2		
	4	CHARGE-синдром		Сниженное количество CD3 ⁺ -клеток, низкий ответ лимфоцитов на фитогемагглютинин
	5	Синдром Кабуки 1 и 2 типа	Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями – другие комбинированные иммунодефициты	Сниженное количество CD3 ⁺ -клеток
	6	Синдром Швахмана-Даймонда	Врожденные дефекты числа и функции фагоцитов – врожденные нейтропении	Врожденная нейтропения
	7	Дефицит G6PC3	Врожденные дефекты числа и функции фагоцитов – врожденные нейтропении	Врожденная нейтропения
8	Дефицит MST1	Комбинированные ПИД, обычно менее тяжелые чем ТКИН	Сниженное количество Т-клеток, сниженное количества наивных Т-клеток, повышенное количество Т-клеток памяти, но с низким их репертуаром, сниженное количество В-клеток	

Хромосомные аномалии	9	Синдром Дауна (трисомия 21 хромосомы)	Анеуплоидии	Гипо-/ аплазия тимуса, сниженное количество CD3 ⁺ -клеток, нарушения гуморального иммунного ответа, нейтрофильная недостаточность
	10	Синдром Шерешевского тернера (моносомия X хромосомы)	Анеуплоидии	Снижение уровней иммуноглобулинов класса G и M
	11	Синдром крика кошки (делеция 5p)	Хромосомные aberrации	Нейтрофильная недостаточность
	12	Синдром Эдвардса (трисомия 18 хромосомы)	Анеуплоидии	Нейтрофильная недостаточность

Но в данной ситуации нельзя ограничиваться лишь этими 12 синдромами, вероятны случаи, когда ВПС не является частью симптомокомплекса одного из синдромов ПИД, а представляет собой сопутствующую патологию, причиной которой может быть совершенно другие наследственные синдромы.

Также в литературных данных представлены так называемые социально-экономические заболевания, в проявлениях которых встречаются иммунодефицитные состояния и врожденные пороки сердца (таблица 3).

Таблица 3 – Кардиологические и иммунологические проявления социально-экономических заболеваний

Заболевание	Основные проявления	Врожденный порок сердца	Иммунологические проявления	№ источника в списке литературы
Синдром врожденной краснухи	Нейросенсорная тугоухость, катаракта, гепатоспленомегалия, тромбоцитопения	Периферический стеноз легочной артерии, ОАП	Сниженная активность лимфоцитарного ответа, снижение уровней иммуноглобулинов класса G и M	103, 108, 139, 176
Алкогольный синдром плода	Нарушения ЦНС, ЗФР, лицевой дисморфизм	ДПЖП, ДМПП, дефекты дуги аорты	Сниженные клеточный и гуморальный иммунный ответ	114, 191

Дефицит витамина А	Мальформации органов ЦНС, лицевой дисморфизм	Конотрункальные мальформации	Дисплатические изменения тимуса	166
-----------------------	---	---------------------------------	------------------------------------	-----

Поскольку наблюдается явная тенденция так называемого сопровождения врожденных ошибок иммунитета и пороков сердца, разумно предположить у таких пациентов синдром первичного иммунодефицита, особенно в тех случаях, когда среди фенотипических проявлений болезни есть данные об инфекционных заболеваниях или нарушениях гомеостатического равновесия организма.

Также важным представляется популяризация получаемых знаний в профессиональной среде, что необходимо для увеличения степени настороженности врачей различной специализации, поскольку за такими синдромами как сердечная и дыхательная недостаточность, характерных для пациентов с ВПС, могут скрываться и ПИД, которые могут проявляться ранним неонатальным сепсисом, генерализацией, системным воспалением неинфекционного генеза и нарушениями репарации, что требует своевременных патогенетических вмешательств.

1.4 – Возможности методов антенатальной диагностики врожденных ошибок иммунитета с пороками сердца

Первичные иммунодефициты (ПИД), развивающиеся в результате врожденных ошибок иммунитета – заболевания генетически детерминированные. Как уже упоминалось, в настоящее время описано более 500 отдельных нозологических форм ПИД. Каждая нозологическая форма определена своим генотипом, что определяет необходимость понимания врачами не только основ терапии, иммунологии и тактики ведения пациентов, но и клинической и лабораторной генетики. Выявление молекулярно-генетического дефекта, являющегося причиной данного патологического состояния, позволит однозначно установить диагноз, в большинстве случаев

определить прогноз течения, а также спланировать тактику ведения конкретного пациента. Неотъемлемым аспектом диагностики наследственных заболеваний является медико-генетическое консультирование семьи пациента с ПИД.

Естественно, что аутосомно-рецессивные заболевания, а также молекулярные дефекты, возникающие *de novo*, достаточно сложно предугадать в ранний пренатальный период. В данном вопросе именно генеалогическое и анамнестическое исследование консультируемой семьи имеет наиважнейшую роль. В современном мире существуют методы, позволяющие родителям с отягощенным наследственным анамнезом иметь здоровых детей. Одним из таких методов является преимплантационное генетическое тестирование в рамках программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Пренатальная диагностика – одно из уже ставших классическим направление медицинской генетики, основной целью которого является дородовая диагностика, профилактика, а также внутриутробные куративные и терапевтические мероприятия врожденных болезней. Антенатальная диагностика обладает широким арсеналом методов и клинических манипуляций, позволяющих выявлять врожденную патологию теоретически на любом сроке беременности, при этом без ятрогенных угроз как для плода, так и для матери.

На сегодняшний день принято выделять 2 этапа пренатальной диагностики: во-первых, одним из самых важных этапов является выделение и пристальное наблюдение семей после проведения медико-генетического консультирования с высоким риском рождения ребенка с наследственной патологией или обследовании беременной в женской консультации. Второй этап заключается непосредственно в лабораторно-инструментальной диагностике беременной и плода [24].

Данный этап необходим для случаев сочетанной патологии врожденных пороков сердца (ВПС) и ПИД в семьях. ВПС – одна из наиболее часто

выявляемых патологий в пренатальной диагностике, при этом они являются основной причиной младенческой смертности, с заболеваемостью от 4 до 13 на 1000 новорожденных [66, 70, 140]. Оптимальное выполнение скринингового исследования сердца плода проводится с 18 по 22 неделю гестации, однако многие анатомические структуры могут быть визуализированы только после 22 недели [53, 59, 84, 91, 94, 211].

С развитием и совершенствованием технологического оснащения современных отделений пренатальной диагностики, в наше время возможно провести дифференциальную диагностику уже в раннем антенатальном периоде.

Одной из важных задач пренатальной диагностики является раннее и достоверное обнаружение патологии плода, которое впоследствии может стать причиной гибели или тяжелой инвалидизации ребенка. В отделениях пренатальной диагностики ключевым является процесс формирования среди беременных групп риска по такой частой патологии, как хронические аномалии у плодов. Пренатальный комбинированный скрининг беременных, включающий измерение уровней биохимических маркеров в крови матери, а также выявление ультразвуковых маркеров наследственной патологии при исследовании плода, позволяет сформировать среди беременных женщин группу риска по наиболее частым анеуплоидиям. При этом структурные aberrации, в частности, микроделеции, составляющие значительную часть хромосомных аномалий, не всегда удается обнаружить с использованием данных методов [52, 112, 143].

В отличие от числовых хромосомных нарушений, фенотипические проявления при многих микроделеционных/микродупликационных синдромах в перинатальный период развития, обычно, не проявляются в виде грубых пороков развития. На ранних гестационных сроках единственным методом, позволяющим исследовать внешнюю манифестацию плода, является ультразвуковое исследование. Описание необычных перинатальных фенотипических особенностей, совершенствование техники проведения

ультразвукового исследования, а также повышение квалификации и мотивации специалистов ультразвуковой диагностики отделений пренатальной диагностики, являются существенно актуальными для выявления наследственных аномалий у плода. Поиск новых эхографических маркеров, которые способны характеризовать разнообразные клинические случаи, присущие, например, микроделеционным или хромосомным болезням, является актуальным аспектом антенатальной диагностики [43, 198].

Диагностика микроделеционных синдромов, обусловленных субмикрочромосомными аномалиями, требует больших трудо- и ресурсозатрат, так как необходим поиск нестандартных эхографических стигм и молекулярно-генетических методов диагностики для проведения дифференциальной диагностики. В постнатальном периоде эти синдромы в большинстве случаев сопровождаются психоневрологическими нарушениями, врожденными пороками и множественными микроаномалиями развития, и составляют большую долю в группе пациентов с недифференцированной умственной отсталостью. На сегодняшний день лабораторная диагностика таких нозологий проводится при использовании современных молекулярных методов, таких как сравнительная геномная гибридизация, FISH-метод и другие методы, основанные на применении молекулярно-генетических зондов с последующим анализом степени их гибридизации [21].

Суммарная частота редких структурных хромосомных аномалий среди новорожденных достаточно высока, достигая по результатам крупного исследования 17% среди всех выявленных хромосомных аномалий [161]. Крайне важным является аспект ведения национальных и региональных регистров и определение популяционных частот встречаемости и вида наследственной патологии, являющейся следствием редких аномалий генетической информации. Отмечено, что примерно на 50% случаев редких хромосомных аномалий приходятся разнообразные отклонения в развитии,

которые возможно выявить еще в дородовом периоде с использованием методов УЗИ диагностики [152, 161].

Регистрация фенотипических особенностей у плода на ранних сроках гестации, которые характерны для того или иного наследственного заболевания, является непростой задачей. В большинстве случаев при выполнении ультразвукового исследования плода обнаруживаются либо элементы дисэмбриогенеза, либо, так называемые, «мягкие» УЗИ-маркеры, которые обычно описываются при крупных хромосомных аномалиях, хорошо различимые при стандартном кариотипировании, так и более мелкие структурные изменения наследственной информации или даже нормальный кариотип. К эхографическим маркерам, которые могут встречаться при микроделециях у плода, относятся: дефекты сердечно-сосудистой системы, дисплазия почки, поликистоз почки, относительное укорочение трубчатых костей, сколиоз, аномалии кистей и стоп, аномалии головного мозга, лицевые расщелины, аномалии глаз, носа, ушных раковин и др. [152]. Этот перечень достаточно обширен, а выявление во многом зависит от квалификации и мотивации врачей ультразвуковой диагностики и технической оснащенности отделений.

В перинатальном периоде единственным методом распознавания у плода фенотипических нарушений развития, в том числе, связанных с возможными микроперестройками хромосом, является УЗИ плода. Однако многие клинические проявления синдрома делеции 22q11.2 в постнатальном периоде достаточно сложно выявить с помощью ультразвукового исследования. В антенатальном периоде при обнаружении различных признаков врожденных пороков развития или «мягких» УЗИ-маркеров у плодов, не имеющих хромосомных аномалий, расширенная молекулярно-генетическая диагностика могла бы способствовать более раннему выявлению микроделеционных и микродупликационных синдромов. В этих случаях цитогенетический метод, основанный на дифференциальной окраске эу- и гетерохроматина может быть мало информативным для проведения

дифференциального диагноза, а заранее спланировать такое расширенное исследование бывает сложно, так как всегда имеется лимитированность биологического материала, полученного при инвазивной процедуре. В этих случаях следует архивировать некоторое количество плодного материала (клеток) для последующего дополнительного молекулярного исследования в виде запасных хромосомных препаратов, образцов клеток крови или ДНК плода [26, 173, 187].

Впервые пренатальную диагностику синдрома делеции 22q11.2 начали осуществлять в середине 1990-х годов [153, 162, 163]. Интересным является тот факт, что частота встречаемости данного синдрома в популяции человека позволяет сделать предположение о целесообразности включения его в перечень заболеваний, охваченных программой неонатального скрининга. Многие клинические проявления этой патологии в постнатальном периоде (задержка речевого, психомоторного развития, умственная отсталость, некоторые лицевые дисморфии) невозможно или трудно выявить с помощью УЗИ.

Нарушения эмбриогенеза и органогенеза, происходящие вследствие делеции 22q11.2, и возникающие в этой связи структурные поражения, такие как различные пороки сердечно-сосудистой системы, аплазия и гипоплазия тимуса, паращитовидных желез, лицевой дисморфизм и расщелины верхней губы и/или неба, могут предопределять подходы к диагностике подобных аномалий у плода уже внутриутробно.

В первом триместре важным эхографическим маркером хромосомной аномалии у плода является увеличенная толщина воротникового пространства (ТВП). По данным европейских мультицентровых исследований 2003-2004 гг. показано, что в среднем в 30% наблюдений с увеличенной ТВП выявляют числовые хромосомные аномалии у плода, что значительно выше, чем при отсутствии этого признака (1-2%) [27]. Частота выявления хромосомных аномалий у плодов с увеличенной ТВП в I триместре возрастает в зависимости от абсолютной величины этого показателя [12].

Увеличенная ТВП в первые 3 месяца является неоднозначным фактором, обнаруживающийся у плодов не только с вероятных хромосомных аномалий, но и с пороками развития [27, 107]. Некоторые исследователи считают, что у плодов с увеличенной толщиной воротникового пространства риск обнаружения сердечно-сосудистой патологии выше, чем других врожденных аномалий развития [45, 105, 127, 169]. Выявление у плода данной особенности в I триместре является показанием для детальной динамической оценки анатомии плода с применением всех возможных эхографических технологий уже во II триместре беременности.

Показано, что часто беременность плодом с увеличенным ВП протекает с осложнениями и может закончиться неблагоприятно. При анализе данных, полученных Bilardo et al., оказалось, что в 20% случаев беременность с увеличенной толщиной воротникового пространства у плода характеризуется дальнейшим рождением ребенка не только с множественными аномалиями развития, но и с задержкой психомоторного развития, проявляющаяся в виду умственной недостаточности разной степени [109]. В подгруппе детей с такой особенностью часто обнаруживаются микроструктурные хромосомные аномалии, которые невозможно выявить, используя стандартные цитогенетические методы, в том числе микроделеции критического региона 22 хромосомы.

Первый случай пренатального выявления делеции 22q11.2 у плода с увеличенным воротниковым пространством описан Lazanakis et al. [122]. Однако позднее при исследовании больших выборок плодов с расширенным ВП другими авторами делеция 22q11.2 не выявлена [82, 173, 188]. В то же время, другие исследователи выявляли делецию 22q11.2 в единичных случаях у плодов с расширенным ВП и/или развившимися впоследствии ВПС [92, 151, 218].

Во II триместре становится возможным определение эхографических характеристик гораздо большего количества органов и структур. В период с 15 по 17 неделю беременности при использовании аппаратуры для УЗИ с высоким разрешением и с применением объемной реконструкции становится возможным пренатальное определение патологии различных структур сердца, тимуса, дефектов развития мочеполовой системы, других стигм дисэмбриогенеза. По данным некоторых авторов, у плодов с внутриутробно диагностированной патологией сердца, синдром делеции 22q11.2 может быть выявлен в 3-5,5% наблюдений [150]. При УЗИ плода возможно определение формы и расположения наружного слухового аппарата, особенности формирования и разреза глаз, носовых костей и других признаков дисморфизма. В этот период беременности также можно обнаружить и некоторые другие пороки развития плода, например, расщелины верхней губы и/или неба, патологию тимуса, почек и других внутренних органов [5, 56, 90, 150, 214].

В обширном мультицентровом исследовании, проведенном во Франции, представлены результаты 272 беременностей плодами с делецией 22q11.2. Проанализированы эхографические и аутопсийные исследования, а также исходы беременностей. Авторы из 39 пренатальных центров отметили сложности и особенности пренатальной диагностики синдрома делеции 22q11.2. В работе продемонстрирована трудность диагностирования при УЗИ пороков развития почек, тимуса и лицевого дисморфизма у плода даже во II триместре беременности. Подробное эхографическое исследование плодов в этом периоде требует не только длительного времени самого исследования и высокой квалификации врачей, но и использования аппаратуры современного класса (3D/4D). По сравнению с результатами аутопсийных диагнозов пороки развития мочеполовой системы (МПС), тимуса и лицевых структур

распознают при эхографической диагностике в 3, 14 и 12 раз реже, соответственно [26].

В настоящее время показаниями для пренатальной диагностики делеции 22q11.2 у плода считаются выявленные при эхографическом исследовании конотрункальные пороки сердца, наличие в семье ребенка с синдромом делеции 22q11.2, случаи носительства данной микроделеции или транслокации с вовлечением хромосомы 22 у одного из родителей.

Также необходимо упомянуть о технологии современного мультиплексного пренатального анализа с помощью сферических биочипов для молекулярного кариотипирования (BoBs-on-Beads) в целях выявления анеуплоидий хромосом 21, 13, 18, X и Y и десяти микроделеционных синдромов, включая синдром делеции 22q11.2 [37]. Этот метод с одной стороны, позволяет получить необходимые данные о наличии или отсутствии патологии у плода, а с другой стороны не дает лишних трудно интерпретируемых сведений о носительстве полиморфных вариантов неясной значимости (SNP, CNV) у плода.

Несмотря на большую разрешающую способность современных молекулярных методов в диагностике генетических дефектов таких, как CGH, BoBs и MLPA для пренатальной диагностики в целом, и для диагностики синдрома делеции 22q11.2 в частности, к их недостаткам можно отнести высокую стоимость анализа, трудности (и нередко – неоднозначность) интерпретации полученных результатов, ограниченность инвазивного материала и, как следствие, сложность в повторном или расширенном молекулярном исследовании, а также проблемы воспроизводимости тестов [131].

Таким образом, в литературе достаточно широко охарактеризованы подходы к диагностике и лечению пациентов как с первичными

иммунодефицитами, так и с врожденными пороками сердца. Однако важно понимать, что, выявляя у пациента особенности каждого из этих нозологических состояний, необходимо использовать новую диагностическую и терапевтическую тактику, опираясь на понимание взаимовлияния текущих патологических процессов, характерных для врожденных ошибок иммунитета. Данный факт и служит основанием для проведения нашего исследования по характеристике пациентов с первичными иммунодефицитами с врожденными пороками сердца.

ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 – Объем проведенных исследований

Анализ исследуемых параметров, клинических данных и медицинской документации (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) проведен у 271 ребенка, которые были распределены на исследуемые группы.

1 группа постмортальная – пациенты с клинически верифицированным диагнозом первичного иммунодефицита (n=135).

2 группа постмортальная – пациенты с клинически верифицированным диагнозом ПИД с ВПС, выделенные из 1 группы (n=50).

3 группа – пациенты с молекулярно-установленными аномалиями региона 22q11 (n=56).

4 группа – группа сравнения (n=80).

В качестве биологического материала для молекулярно-генетических исследований использовались цельная кровь и высушенные пятна капиллярной крови.

Сухие пятна крови, использованные в настоящей работе, были собраны на 4-7 сутки после рождения из пятки новорожденных в зависимости от степени недоношенности: на 4 сутки у доношенных, на 7 сутки у недоношенных детей. Все образцы сухих пятен крови хранились в архиве лаборатории неонатального скрининга ГАУЗ СО «КДЦ «Охрана здоровья матери и ребенка» (зав. лабораторией Беляева Т.И.).

Формирование постмортальной группы исследования

Исследование случаев в постмортальной группе пациентов, проводилось путем анализа медицинской документации, а также лабораторных исследований биологического материала.

Группа постмортальных пациентов была разделена на 2 группы:

1) подгруппа пациентов с постмортально верифицированным диагнозом «первичный иммунодефицит», составляющая 1-ю исследуемую группу;

2) подгруппа пациентов с постмортально верифицированным диагнозом «первичный иммунодефицит» с врожденными пороками сердца и магистральных сосудов, составляющая 2-ю исследуемую группу;

2-я группа пациентов была неоднородна по гестационным срокам. Так как в ходе анализа литературных и полученных нами данных при исследовании условно здоровых детей группа дополнительно была разделены на четыре подгруппы по гестационному возрасту (*рисунок 1*).



Рисунок 1 – Структура степени недоношенности среди постмортально выявленных пациентов с первичными иммунодефицитами, имевших врожденные пороки сердца

Примечание: экстремально недоношенные (срок гестации от 22 до 28 недель гестации), глубоко недоношенные (срок гестации 28-31 недель гестации), недоношенные средней и легкой степени (срок гестации 32-37 недель гестации), доношенные новорожденные (старше 38 недель гестации) [Moutquin J.M., 2003, Goldenberg R.L., 2008].

Формирование группы пациентов с молекулярно-установленными аномалиями региона 22q11

Для анализа гетерогенности клинических проявлений синдромов микроделеции (микродупликации) критического региона 22q11, использовались данные клинических обследований пациентов, наблюдающихся в отделениях медико-генетического консультирования ГАУЗ СО «КДЦ «Охрана здоровья матери и ребенка» (зав. отделением, к.м.н. Сумина М.Г.) и клинической иммунологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» г. Екатеринбург (зав. Отделением, к.м.н. Власова Е.В.). Лабораторные исследования и анализ результатов молекулярно-генетических тестов проводился в лаборатории молекулярной диагностики ГАУЗ СО «КДЦ «Охрана здоровья матери и ребенка» (зав. лабораторией, к.б.н. Дерябина С.С.).

Всего в группу с аномалиями критического региона 22q11 включены 56 пациентов (31 мальчик и 25 девочек): 44 классических случая микроделений региона 22q11 (A-C), 1 случай делеции 22q11.2(B), 1 случай частичной делеции 22q11.2(A), 9 случаев с дупликацией региона 22q11.2(A-C) и 1 случай дупликации регионов 22q11.2(A)+CES (регион Cat Eye Syndrome – синдром кошачьего глаза).

Формирование группы сравнения

В исследование было включено 80 условно здоровых детей (40 мальчиков и 40 девочек), рожденных в Свердловской области в 2020 году на разных сроках гестации (*рисунок 2*). Понятие условного здоровья детей предполагало отсутствие отклонений по показателям массового неонатального скрининга, отсутствие переливания крови в анамнезе, а также отсутствие клинических проявлений врожденных ошибок иммунитета и пороков развития. Такая модель эксперимента позволила охарактеризовать иммунологические параметры в разном гестационном возрасте.



Рисунок 2 – Распределение исследуемой группы условно здоровых детей по гестационному возрасту и весу при рождении

2.2 – Лабораторные методы исследования

Выделение ДНК из образцов сухой крови

Выделение ДНК проводили преципитационным методом с помощью набора «РИБО-преп» (Амплисенс, Россия) из 3 панчей сухой крови 3,2 мм (~10 мкл капиллярной крови) ручным методом. Для этого в пробирки, содержащие выбитые из пятен сухой крови панчи, добавляли по 300 мкл лизирующего раствора, перемешивали на вортексе и инкубировали в течение 30 минут при 65°C, периодически перемешивая (каждые 8-10 мин.), после чего центрифугировали в течение 1 мин. при 10 тыс. об./мин.

После центрифугирования из пробирок с помощью стерильной металлической иглы извлекали фрагменты фильтровальной бумаги, к экстракту добавляли 400 мкл раствора для преципитации и тщательно перемешивали. Затем смесь центрифугировали в течение 5 мин. при 13 тыс. об./мин. Отбирали надосадочную жидкость, а осадок промывали согласно протоколу производителя. После отмывки и просушки осадка нуклеиновые кислоты растворяли в 50 мкл элюирующего буфера в течение 5 мин. при 65°C.

Выделение ДНК из образцов цельной крови

Выделение ДНК проводили методом магнитной сорбции с помощью набора «MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I» (Roche, Германия) из 200 мкл цельной крови на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «MagNA Pure LC 2.0 Instrument» (Roche, Германия) по стандартному протоколу «DNA I Blood Cells High Performance».

Молекулярно-генетическое определение микроделеции 22q11.2

Метод мультиплексной лигазозависимой амплификации

При использовании метода мультиплексной лигазозависимой амплификации для выявления аномалий критического региона 22 хромосомы использовали наборы P250-DiGeorge Syndrome и P-245-Microdeletion Syndrome-1A (MRC-Holland, Нидерланды) согласно протоколу производителя. Измерения результатов амплификации проводили на автоматической станции капиллярного электрофореза ABI Prism 3500 (ThermoFisher Scientific, США).

Метод VACs-on-Beads

При исследовании ДНК методом основанном на технологии VACs-on-Beads использовали набор Prenatal VoBs (PerkinElmer, Финляндия), предназначенный для диагностики анеуплоидий по 13, 18, 21 и X-хромосомам и 9 частых микроделеционных синдрома (синдром Вольфа-Хиршхорна, синдром кошачьего крика, синдром Вильямса-Бюрена, синдром Лангера-Гидеона, синдрома Прадера-Вилли и Ангельмана, синдром Миллера-Дикера, синдром Смита-Мегениса, синдром ДиДжорджи, синдром ДиДжорджи II). Регистрацию и анализ результатов сравнительной геномной гибридизации производили на системе оборудования Luminex 200 (Luminex, Швейцария).

Количественный анализ молекул TREC и KREC в образцах сухой крови

Количественное определение маркеров наивных Т- и В-клеток – TREC и KREC, было проведено с помощью отечественной тест-системы «Иммуно-БиТ» (АБВ-тест, Россия).

Мультиплексную ПЦР в режиме реального времени проводили в термоциклерах с оптическим блоком CFX96 («Bio-Rad», США) и LightCycler (Roche, Германия). Объем реакционной смеси составлял 25 мкл и включал в состав реакционного буфера, готовую ПЦР-смесь, Taq-ДНК полимеразу и ДНК, выделенную из образцов сухой крови. ПЦР-смесь включала в себя праймеры и realtime-зонды для TREC, KREC и гена альбумина (*ALB*), который использовался в качестве внутреннего контрольного образца (ВКО), раствор дезоксинуклеотидов. Этапы амплификации программировались в соответствии с инструкцией производителя.

Для расчета концентрации использовали калибровочные кривые, полученные при проведении ПЦР из стандартов, входящих в состав набора, с концентрацией каждого аналита $1,3 \times 10^7$, 4×10^5 , 5×10^3 и 10^3 копий в 1 мл.

При исследовании ДНК, выделенной из образцов крови, количество копий TREC/KREC в образце рассчитывали на 10^5 лейкоцитов с учетом внутреннего контроля *ALB*, по формуле [36]:

$$\text{Количество TREC (KREC)} = \frac{\text{количество копий TREC (KREC) в мл}}{\text{количество копий ALB в мл}} \times 200\,000$$

Данная формула учитывает количество ядродержащих клеток в образце крови, взятой для выделения ДНК: 1 мл крови содержит примерно 10^6 лейкоцитов, следовательно, в 0,1 мл их 10^5 , к тому же количество клеток в 2 раза меньше копий *ALB* (в связи с диплоидным набором хромосом у человека).

2.3 – Методы статистической обработки данных.

Математическую обработку данных проводили с использованием методов статистического анализа при помощи пакетов программ MS Office

Excel, Statistica 10.0, SPSS Statistic 17.0. Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро-Уилка, для статистического анализа полученных результатов использовали непараметрические методы: критерии Манна-Уитни, критерий Краскелла-Уолиса и коэффициент корреляции Спирмана. Уровень достоверности значимости различий между анализируемыми группами принимали при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 – ВРОЖДЕННЫЕ ОШИБКИ ИММУНИТЕТА В СТРУКТУРЕ РАННЕЙ ДЕТСКОЙ СМЕРТНОСТИ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Частота ПИД в Свердловской области больше, чем в регистрах других стран, где работают службы клинической иммунологии и есть соответствующие специалисты. Например, частота выявленных случаев ПИД во Франции – 1 : 13 000 населения (база данных ESID) [54]. В России такие данные собираются в очень немногих регионах – в Московской области и в г. Санкт-Петербурге. Единичные случаи выявляются в других регионах Российской Федерации [9].

В Свердловской области частота выявления случаев первичных иммунодефицитов к началу 2021 года на составляла 1 : 6 714: среди детского населения – 1: 1 998, среди взрослого населения – 1 на 19 499, что чаще, чем во Франции, где высокая миграция и наличие населения, не охваченного специализированной медицинской помощью [23]. Учитывая, что по данным ведущих специалистов мира, разные формы ПИД могут встречаться у 1-2% населения [10], то есть надо предполагать, что большая часть пациентов продолжают наблюдаться под другими диагнозами, что приводит к удлинению времени диагностики и несвоевременности применения патогенетически обусловленной терапии, безвозвратно упускается период «окна возможностей» для сохранения качества и продолжительности жизни. При этом тяжелые формы комбинированных иммунодефицитов, при которых дети редко доживают до года, составляют значительную часть в структуре детской смертности. Так, по данным постмортальной экспертизы летальных исходов у детей в Свердловской области, таких случаев с 2015 г. по 2021 г. – 135 (7,5% от общей младенческой смертности в Свердловской области). Из них 77% (103 случая) – дети с первичными иммунодефицитами и 23% (31 случай) – другие болезни, среди которых «другие неуточненные наследственные заболевания», ВИЧ-инфекция и множественные пороки развития, как проявления токсических воздействий в пре- и интранатальный период [23].

Следует особо отметить возможность выявления таких пациентов еще до манифестации болезни и появления первых клинических признаков при проведении используемого уже во всем мире неонатального тестирования на врожденные ошибки иммунитета. Учитывая столь значительную долю детей с первичными иммунодефицитами в структуре младенческой смертности и наличия на рынке РФ сертифицированных реактивов для исследования, наиважнейшей задачей на сегодняшний день является внедрение этого метода не только в Свердловской области, но и на территории всей страны. Кроме того, в регионе существует профессиональная служба клинической иммунологии, способная реализовывать задачи диспансеризации, курирования и реабилитации детей с врожденными ошибками иммунитета. Это позволит сократить значительные экономические затраты на выхаживание и медицинское обеспечение таких детей, для лечения которых используются высокочрезвычайно дорогие технологии, тем не менее не исключая летальный исход, поскольку не являются патогенетически обоснованными.

Следует обратить внимание на тот факт, что с 2015 по 2021 год среди пациентов с иммунологическими расстройствами в 135 случаях диагноз констатирован уже постмортально, согласно заключению экспертной комиссии Минздрава Свердловской области. Проанализировав соотношение детей с нозологическими проявлениями врожденных ошибок иммунитета относительно их гестационного возраста, получили результаты, продемонстрированные на *рисунке 3*.

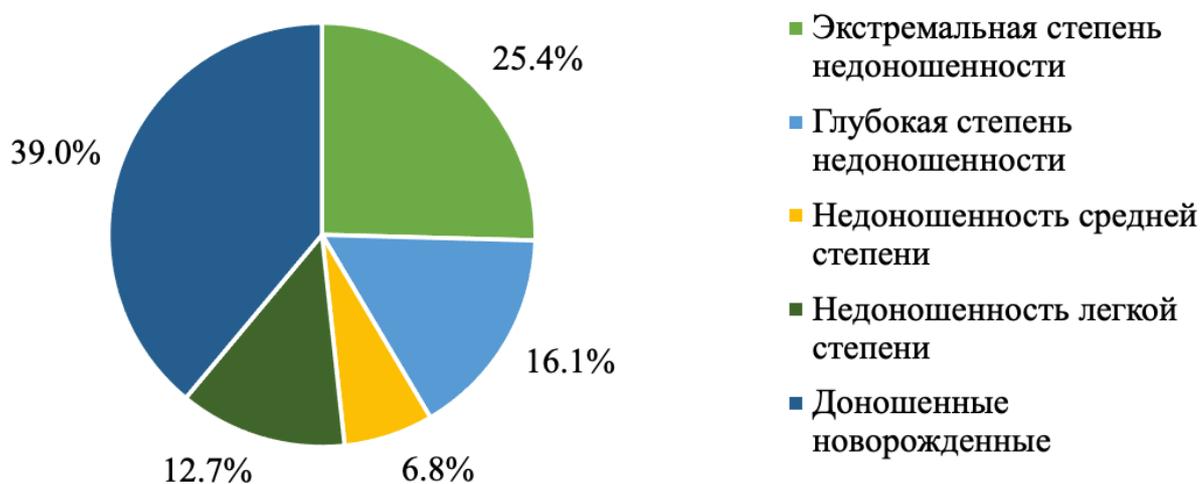


Рисунок 3 – Распределение летальных случаев при врожденных ошибках иммунитета относительно гестационного возраста

Выявлено, что 61% пациентов, умерших от иммунозависимой патологии были недоношенными: с экстремальной степенью недоношенности (гестационный возраст от 22 до 28 недель гестации) – 25,4%, с глубокой степенью недоношенности (29-32 недели гестации) – 16,1%, с недоношенностью средней степени (33-35 недель гестации) – 6,8%, с легкой недоношенностью (36-38 недель гестации) – 12,7%. Также необходимо отметить, что в 31,5% случаев постмортальной диагностики выявлены структурные изменения тканей тимуса.

Данный факт отражает важность понимания того, что первично: врожденные ошибки иммунитета или незрелость систем организма.

Согласно теории эмбриогенеза развитие одного из центральных органов иммунной системы – тимуса, претерпевает несколько критических периодов, однако одними из главных являются периоды с 4-ой по 7-ую неделю, когда происходит закладка органа из мигрированных из III и IV пар жаберных карманов эпителиальных тяжей, их пролиферация и васкуляризация, с 8-ой по 10-ую неделю в связи с заселением первых дифференцированных лимфоцитов CD2⁺, и с 13-ой по 15-ую неделю в момент активного роста органа.

Вероятно, функциональная несостоятельность иммунной системы плода приводит к преждевременным родам, рассматривая данный аспект как эволюционную элиминацию организма, неспособного к продуктивной жизнедеятельности. Однако, благодаря современным технологиям и жизнеспасающим протоколам ведения таких беременностей в настоящее время возможно выхаживать таких детей и обеспечить им качественно лучший уровень жизни.

При проведении нашего исследования также был проанализирован спектр нозологий, выявленных в группе детей с летальными исходами.

В 97% летальных случаев с экстремальной степенью недоношенности (n=30) после детального изучения анамнеза жизни и заболевания постмортальной комиссией был выставлен диагноз «первичный иммунодефицит». При этом в 1 случае была яркая картина синдрома CHARGE

(подтвержденного выявлением генетического дефекта), проявляющаяся многочисленными пороками развития, и 3 случая тяжелой комбинированной иммунной недостаточности, характеризовавшиеся диспластическими изменениями тимуса (микроксистоэ, гипоплазия, несвоевременный жировой патоморфоз), лимфоклеточным опустошением селезенки и костного мозга, нарушениями репарации, приводящими к незаживлению послеоперационных ран. У данных детей описывались случаи бронхо-легочной дисплазии, а также высеив грибковых инфекций (*Candida*), являющихся клиническими маркерами ПИД (рисунок 4).

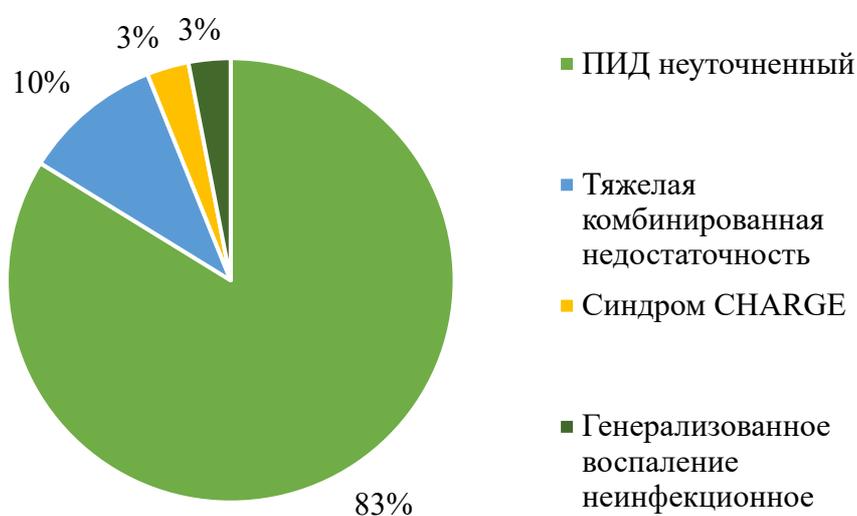


Рисунок 4 – Спектр нозологических синдромов у экстремально недоношенных пациентов

Среди случаев с глубокой недоношенностью наблюдался более широкий спектр заболеваний, ассоциированных с иммунной недостаточностью (рисунок 5).

Среди 23 случаев летальных исходов встретилось 3 случая тяжелой комбинированной иммунной недостаточности, 2 случая синдрома ДиДжорджи, 2 случая с проявлениями первичного иммунодефицита в виде гипоплазии тимуса, 1 случай трисомии 21 хромосомы, рассматриваемой в качестве иммунозависимой патологии с нарушением Т-клеточного звена иммунитета.

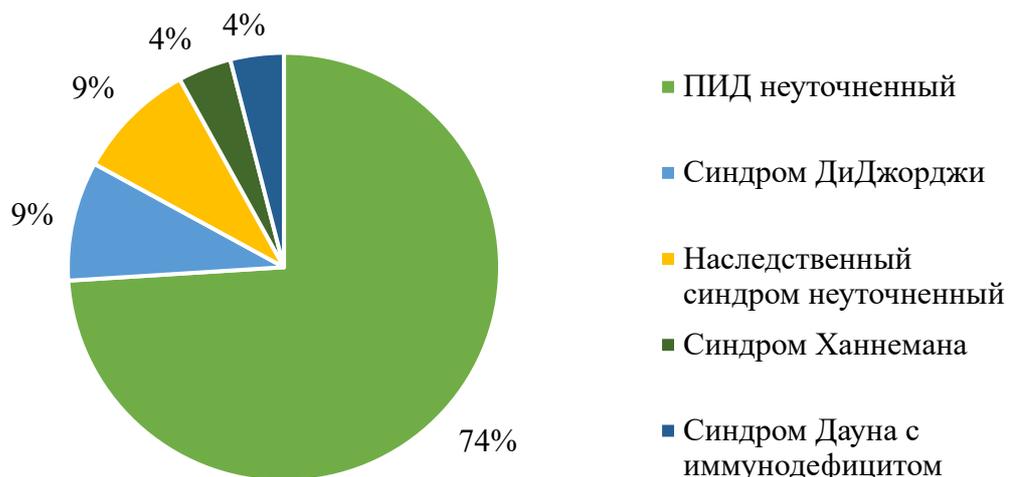


Рисунок 5 – Спектр нозологий среди группы глубоко недоношенных пациентов

А также одно из орфанных заболеваний – синдром Ханнемана, сопровождаемое врожденным пороком лимфатической системы, гипопластической дисплазией тимуса с очагами несвоевременной жировой трансформации и тотальным лимфоклеточным опустошением селезенки, относящихся к группе синдромальных ПИД, согласно классификации врожденных ошибок иммунитета IUIS 2019 [106].

В числе нозологий, встречаемых у детей с недоношенностью средней степени – синдром Эдвардса и синдром Дауна с тяжелым иммунодефицитом, а также 6 случаев ПИД неуточненных (рисунок 6).

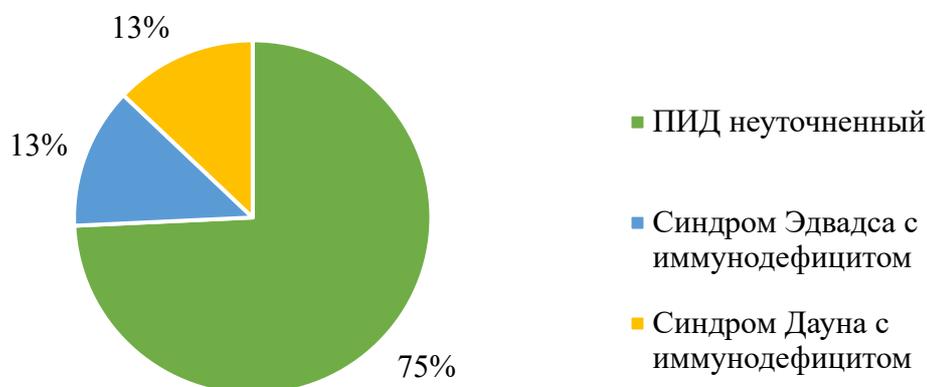


Рисунок 6 – Спектр нозологических синдромов у пациентов с недоношенностью средней степени

В группе пациентов, родившихся на 35-37 неделе с легкой степенью недоношенности спектр верифицированных патологий был еще шире, однако в преобладающем количестве обнаруживались неуточненные врожденные ошибки иммунитета, имевшие в симптомокомплексе патологии убедительные признаки иммунодефицита такие как: диспластический тимус с микрокистозными изменениями, его несвоевременный жировой патоморфоз и лимфоклеточное опустошение, анемические состояния, тромбоцитопении и генерализация инфекционного процесса (рисунок 7).

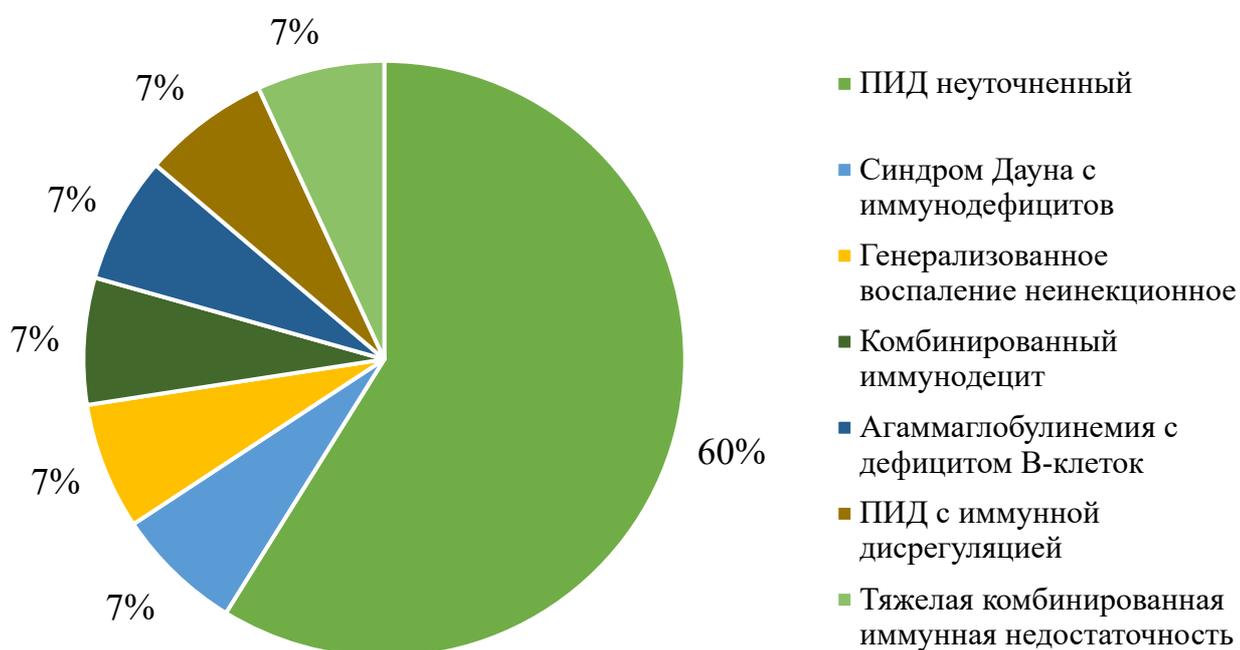


Рисунок 7 – Спектр нозологических синдромов у пациентов с недоношенностью легкой степени

В самой многочисленной группе постмортальных случаев – доношенных пациентов, наблюдался самый широкий спектр нозологических форм, верификация которых была возможна, поскольку фенотипические признаки нозологических форм иммунодефицитов были достаточно выражены (рисунок 8). Так наблюдались признаки: атрофия или дисплазия тимуса, лимфоклеточное опустошение лимфоидных органов (тимуса, селезенки, лимфоузлов), генерализованное воспаление неинфекционное,

грибково-бактериальное воспаление, лимфатическая конституция, БЦЖит, гипогаммаглобулинемия, лимфо- и тромбоцитопении.

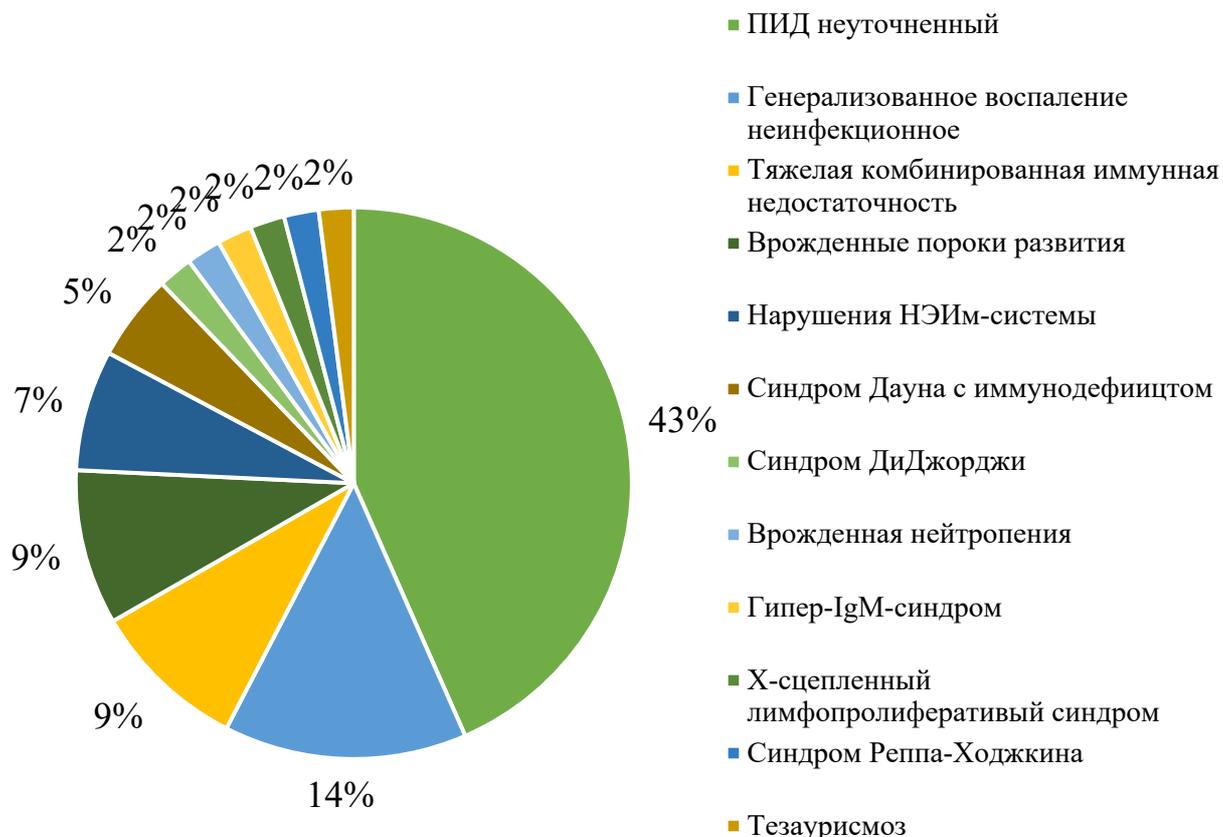


Рисунок 8 – Спектр нозологических синдромов у доношенных пациентов

В качестве одного из подтверждающих тестов при диагностировании иммунодефицита, у этих пациентов ретроспективно были оценены клеточные параметры иммунитета посредством измерения количества молекул TREC и KREC в образцах сухой крови, взятой у них для массового неонатального скрининга (рисунок 9).

Как видно из диаграммы, в 66,7% всех постмортально анализируемых случаев еще прижизненно в первые дни после рождения можно было заподозрить наличие нарушений в иммунной системе благодаря массовому неонатальному скринингу. Данный факт является серьезным обоснованием необходимости скринирования новорожденных на первичные иммунодефициты, что в конечном итоге позволило бы значительно снизить младенческую смертность населения.

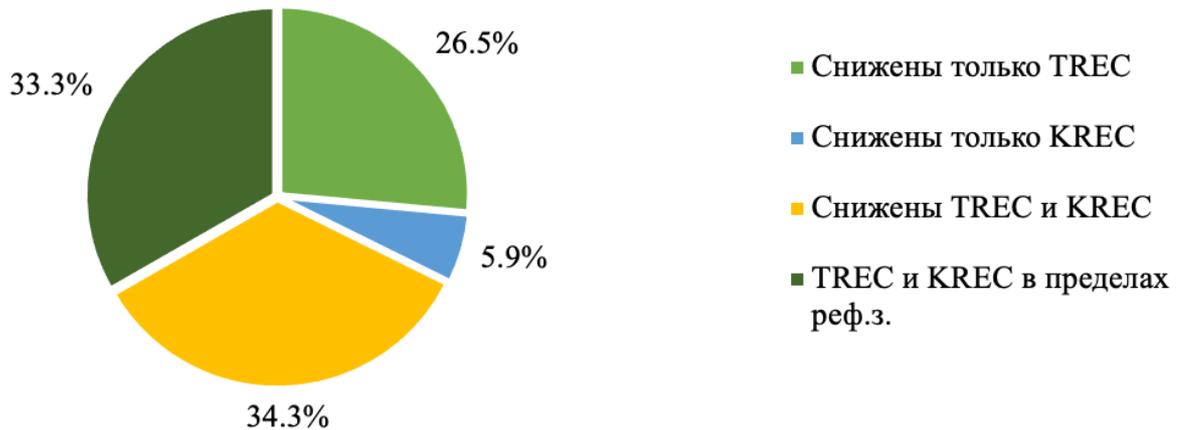


Рисунок 9 – Показатели TREC и KREC в образцах крови пациентов с врожденными ошибками иммунитета

Однако, не только данные объективной диагностики послужили поводом для верификации диагноза в постмортальных случаях. В пользу предполагаемого диагноза также выступали следующие факты, которые обнаруживались в различных комбинациях у детей исследуемой группы:

- **Анамнестические данные о течении антенатального периода и предшествующих беременностях.** Течение беременности с угрозой прерывания на первых неделях беременности, наличие в разных поколениях случаев ранней и поздней детской смерти, инфекционные процессы бактериальной природы и персистирующие вирусные инфекционные заболевания у матери, наличие признаков патологии плода, выявленных пренатально (ВПС, гипоксия), наличие осложнений беременности у матери (анемия, фетоплацентарная недостаточность, артериальная гипертензия).
- **Клинические данные о развитии патологии у детей.** Комбинированный характер фенотипических проявлений болезней, ранняя манифестация, наличие множественных микроаномалий и пороков развития, формирование осложнений, которые связаны с нарушениями процессов репарации при оперативных вмешательствах, атипичное течение острых воспалительных процессов, что выражается неадекватным развитием каскада катобалических изменений (молниеносное течение, развитие васкулитов и геморрагических

отклонений неинфекционного генеза, политопность поражений, выраженные изменения иммунокомпетентных органов).

Исходя из полученных данных, первичные иммунодефициты – нередкая патология, проявляющаяся характерной клиникой, зачастую развивающейся отсроченно и молниеносно. Существует множество предупреждающих знаков и методов диагностики, которые позволяют заподозрить патологию и не упустить окно возможностей для продуктивной патогенетически обоснованной терапии.

Список публикаций по материалам, изложенным в главе 3

1. Черемохин, Д.А. Количественное определение молекул TREC и KREC при первичных иммунодефицитах у детей с врожденными пороками сердца / Д.А. Черемохин, И.А. Тузанкина, С.С. Дерябин, Х. Шинвари // Механизмы развития патологических процессов и болезней, их фармакологическая коррекция: тезисы докладов III научно-практической конференции с международным участием (Харьков, 16 окт. 2020). – Харьков, 2020. – С. 319-320.

2. 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. Черемохин, Т.У. Арипова, Д.А. Мусаходжаева, З.С. Камалов. Ташкент: Изд-во «Adast poligraf», 2022. – 232 с.

ГЛАВА 4 – АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ НАИВНЫХ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ (TREC И KREC) В ОБРАЗЦАХ СУХОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ С РАЗНЫМ ГЕСТАЦИОННЫМ ВОЗРАСТОМ И ИХ ИНФОРМАТИВНОСТЬ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ

Для того, чтобы говорить о характеристике пациентов с врожденными ошибками иммунитета (ВОИ) и об информативности показателей TREC и KREC для пациентов с первичными иммунодефицитами, имеющими врождённые пороки сердца, необходимо знать о состоянии адаптивных параметров иммунитета у здоровых индивидуумов. В настоящее время остается актуальным исследование количественного содержания TREC и KREC в крови новорожденных.

V(D)J-рекомбинация – одно из наиважнейших событий адекватно реагирующей иммунной системы, в процессе которого образование разнообразных и функциональных репертуаров Т-клеточного и В-клеточного рецепторов (TCR и BCR, соответственно). Это важные процессы созревания основных адаптеров адаптивного и нативного иммунитета, которые позволяют распознавать неограниченное количество антигенов [115]. Основными ферментами данного процесса являются рекомбиназы RAG1 и RAG2, катализирующие процесс перестройки фрагментов нуклеотидных последовательностей генов Т-клеточного рецептора в процессе формирования Т-лимфоцитов и в ходе развивающего гуморального иммунного ответа на этапе формирования переменных цепей иммуноглобулинов в В-лимфоцитах [212].

Экспизионные рекомбинационные кольца Т-клеточного рецептора (TREC) представляют собой кольцевые фрагменты ДНК, образующиеся при перестройке гена *TCR* в тимоцитах. Затем TREC транспортируются в виде эписомальной ДНК из ядра в цитоплазму уже самостоятельных Т-клеток, хотя еще и наивных, где они и остаются, причем не включаясь в процессы репликации во время митоза. В результате – концентрация молекул TREC

отражает содержание именно наивных Т-лимфоцитов, что безусловно является важным диагностическим критерием [30, 184, 213].

Во время реаранжировки гена *BCR* в наивных В-клетках образуются, подобные молекулам TREC, двунитевые кольцевые ДНК фрагменты каппа-делеционной рекомбинации (KREC) [147]. Сходным образом, KREC, образующийся во время реаранжировки интрона RSS-K в локусе *IGK*, является надежной мишенью для оценки неогенеза В-клеток из костного мозга [174, 204]. И TREC, и KREC нерепликативны и стабильны, их количество не изменяется во время пролиферации клеток, например, во время клональной экспансии. [186, 205]. Это позволяет молекулам TREC и KREC широко использоваться в качестве маркеров функциональности тимуса и костного мозга в различных клинических условиях, в частности, при выявлении врожденных ошибок иммунитета.

Проанализировав содержание молекул TREC и KREC в образцах сухой крови условно здоровых мальчиков и девочек, статистических значимых различий обнаружено не было (рисунок 10), что сопоставимо с результатами, полученными в других исследованиях [157].

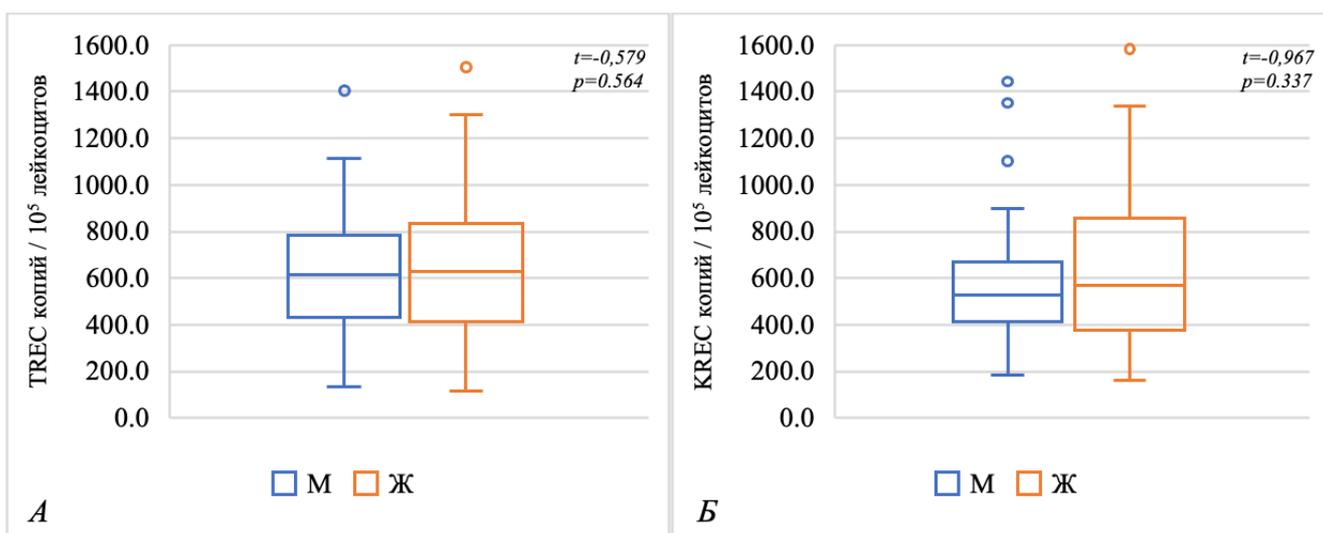


Рисунок 10 – Количество копий TREC (А) и KREC (Б) в группе условно-здоровых девочек (Ж) и мальчиков (М)

Примечание: здесь и далее на диаграмме для каждой группы отображены: медиана, межквартильный и максимальный размах (минимум, максимум) переменной.

На основании полученных данных корреляционного анализа был проведен статистический анализ для определения возможных вариаций количества молекул TREC и KREC, ассоциированных с разным гестационным возрастом новорожденных, между гестационным возрастом и количеством молекул TREC была установлена статистически значимая положительная связь ($\rho=0,446$ ($p<0,001$)). Относительно маркера наивных В-клеток взаимозависимых связей между возрастом ребенка и количеством молекул KREC обнаружено не было (рисунки 11), что позволяет предположить, что для количественной оценки при любом гестационном возрасте могут быть использованы единые референсные интервалы.

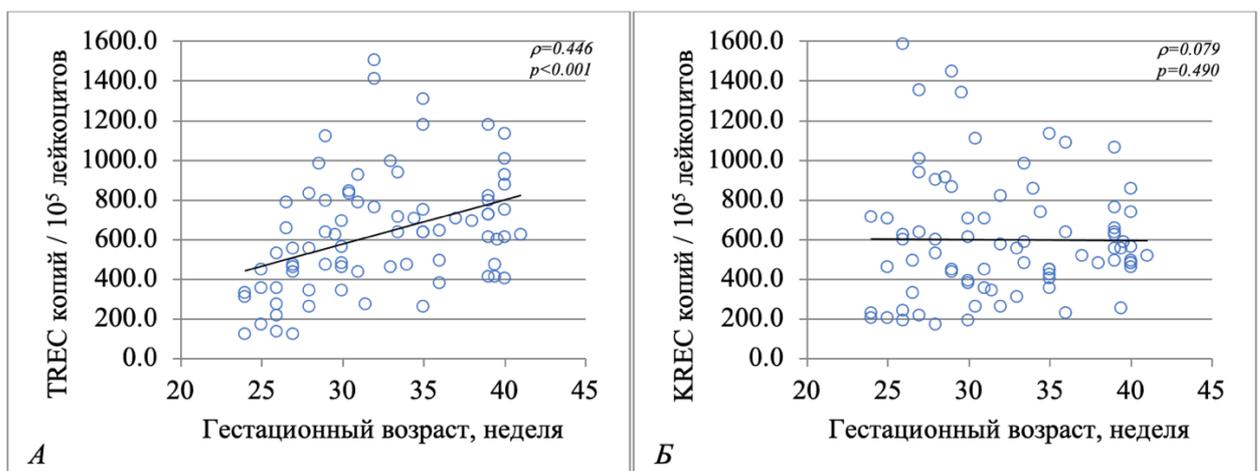


Рисунок 11 – Количество молекул TREC (А) и KREC (Б) в образцах сухой крови условно здоровых новорожденных детей в зависимости от гестационного возраста

Мы также проанализировали зависимость количественного содержания маркеров наивных Т- и В-лимфоцитов от веса новорожденного. Естественно, что с увеличением срока гестации постепенно развивается и плод. Соответственно гестационному периоду развиваются все внутренние органы, в частности, тимус. По мере роста и дифференцировки тимогенных тканей они обогащаются предшественниками лимфоцитов, при чем теми, которые уже смогли пройти рубеж двойной рекогнизации – позитивной и негативной селекции. Это выражается в положительной корреляционной зависимости ($\rho=0,413$ ($p<0,001$)) между массой ребенка при рождении и количеством

молекул TREC, содержащихся в сухих образцах крови новорожденных (рисунок 12).

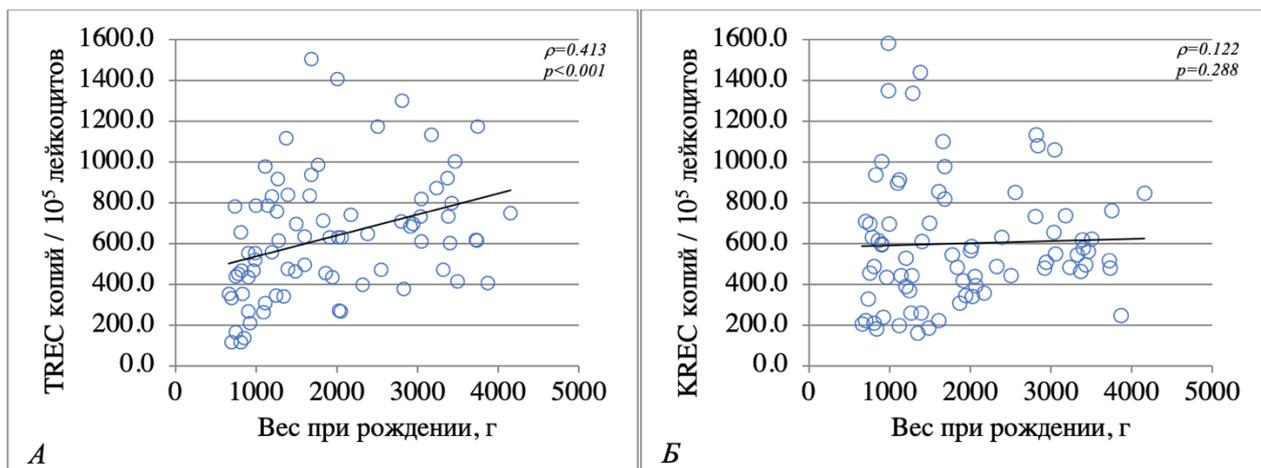


Рисунок 12 – Количество молекул TREC (А) и KREC (Б) в образцах сухой крови условно здоровых детей в зависимости от веса при рождении

На основании полученных данных для получения репрезентативных данных о содержании молекул TREC в сухих образцах крови условно здоровых детей было решено разделить их на 4 группы по степени недоношенности: дети с экстремальной степенью недоношенности (<28 недель), дети с глубокой степенью недоношенности (28-32 недели), дети со средней и легкой степенью недоношенности (33-37 недель) и доношенные (38-41 неделя) (рисунок 13, таблица 4).

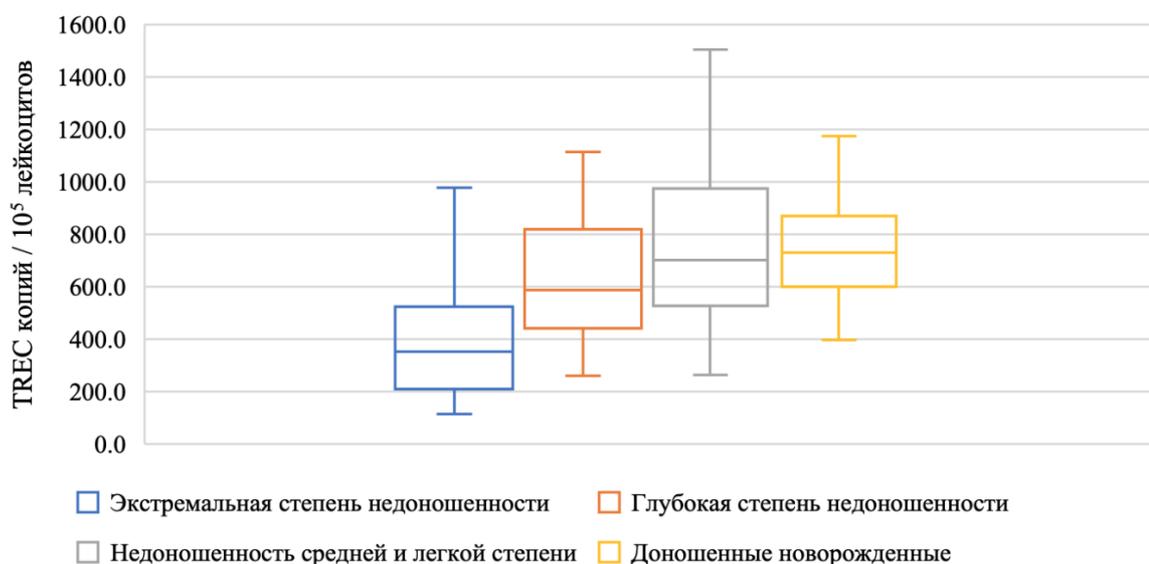


Рисунок 13 – Количество молекул TREC в сухих образцах крови условно здоровых детей разной степени недоношенности в раннем неонатальном периоде

Таблица 4 – Количество молекул TREC (копий / 10^5 лейкоцитов) в сухих образцах крови условно здоровых детей разной степени недоношенности в раннем неонатальном периоде

Степень доношенности	Среднее значение	95% интервал	Стандартная ошибка среднего	MIN	MAX
Экстремальная степень недоношенности (<28 недель)	402,7*	116,6 – 784,0	52,8	115,9	978,0
Глубокая степень недоношенности (28-32 недель)	611,1*	271,0 – 917,9	52,2	261,4	1115,6
Недоношенности средней и легкой степени (33-37 недель)	776,1*	378,2 – 1405,4	76,5	263,6	1505,6
Доношенные (38-41 недель)	723,9	406,1 – 1133,2	52,5	398,1	1174,0

Примечание: * - статистически значимые различия при $p < 0,05$

Основываясь на данном наблюдении и результатах многих других исследований, посвященных возрастной динамике содержания молекул TREC в периферической крови, можно сделать заключение о том, что данный показатель является весьма непостоянным. Это говорит о том, что важно быть настороженным при интерпретации результатов лабораторного исследования: учитывать гестационный возраст при исследованиях в рамках неонатального скрининга, зная, что для недоношенных характерны более низкие значения TREC. Так, при обследовании недоношенного ребенка с гестационным возрастом до 37 недель и получении результата с TREC ниже референсных значений, рекомендуемых производителями тест-систем, обязательным является запрос о взятии повторного образца сухой крови в более поздний срок – минимум по достижению 37-и недельного гестационного возраста, поскольку это позволит избежать получения ложноположительных результатов.

С другой стороны, не менее важно учитывать возраст пациента в более позднем постнатальном периоде. Результаты многих исследований показывают, что по мере взросления количество молекул TREC значительно снижается, что приводит к тому, что необходимо иметь уровни референсных значений уровня TREC для каждого значимого возрастного периода [55, 88, 156, 157, 160, 173, 185].

Несмотря на показательность различий между группами новорожденных с различным гестационным возрастом, высокие значения среднеквадратичного отклонения говорят о высокой вероятности статистической ошибки. Вероятно, это связано с небольшими выборками, поэтому в настоящее время весьма актуально проведение массовых исследований данной проблемы.

Поскольку не было обнаружено статистически значимых взаимосвязей между количественным содержанием молекул KREC в сухих образцах крови от массы тела и гестационного возраста детей с разной степенью доношенности, было принято решение не разделять их на отдельные группы в дальнейшем. Результаты описательной статистики представлены в *таблице 5*.

Таблица 5 – Количество молекул KREC (копий / 10^5 лейкоцитов) в сухих образцах крови условно здоровых детей

Среднее значение	95% интервал	Стандартная ошибка среднего	MIN	MAX
599,9	206,2 – 1135,6	34,9	162,8	1584,0

Данные результаты демонстрируют, что определение достаточного количества KREC в сухом пятне крови новорожденного старше 24 недель гестации является показателем правильного созревания В-клеток в костном мозге. Известно, что пре-В-лимфоциты выявляются у плода в фетальной печени на 8-й неделе гестации, где они уже начинают экспрессировать на своей поверхности молекулы иммуноглобулина М. Это свидетельствует о том, что уже на столь ранних этапах развития человека система иммунитета

функционирует с высокой эффективностью, что вероятно и проявляется в таком относительно высоком уровне молекул KREC, определяемых в сухих пятнах детей, рожденных в разные гестационные сроки.

Основной задачей тестирования новорожденных на содержание молекул TREC и KREC является своевременное определение детей с низкими значениями в группу риска по жизнеугрожающему заболеванию – тяжелого комбинированного иммунодефицита (за исключением дефицита Zap70, дефицита MHC II и дефицита ADA с поздним началом). Однако, в настоящее время в литературных данных представляется множество информации о снижении этих маркеров при массе других иммуноопосредованных нозологиях: синдром делеции 22q11.2, X-сцепленная агаммаглобулинемия, комбинированная иммунная недостаточность, XLA-подобные болезни, атаксия-телеангиэктазия, синдром Ниймеген, недостаточность DOCK8, ангидротическая эктодермальная дисплазия с иммунодефицитом, варианты хромосомных болезней с иммунодефицитом: трисомия по 21 и 18 хромосомам, синдром Кабуки 1-шл и 2-го типов, CHARGE-синдром, синдром Нунан, синдром Якобсена, синдром Фринса, иммунокостная дисплазия Шимке, синдром гипоплазии хрящевой ткани и волосяного покрова, синдром CLOVES, синдром EEC, дефект Rac2, синдром Ренпеннинга, TAR-синдром и в ряде других цитогенетических нарушений (делеции br, кольцевая хромосома 14, кольцевая хромосома 17, дупликации 17p, делеции 14q) [6].

В нашей работе определение молекул TREC и KREC проводилось у детей с сочетанными нарушениями сердечно-сосудистой и иммунной систем.

Таким образом, для исключения ложноположительных результатов необходимо использовать референсные интервалы в разных группах детей, разделенных по степени недоношенности. Для дальнейшей оценки состояния адаптивного иммунитета детей из исследуемой группы были приняты нижние границы 95%-го интервала в качестве минимально допустимых уровней маркеров наивных Т- и В-лимфоцитов.

**Список опубликованных работ по результатам исследования,
представленных в 4 главе**

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, З. И. А. Тузанкина, Д. А. Кудлай // *Acta Naturae*, 2022. Т. 14, № 1 (52), С. 103-108.

2. 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.

ГЛАВА 5 – РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Дети с врожденными пороками сердца зачастую подвержены серьезным инфекциям. Особенно распространены инфекционные заболевания респираторного тракта, эндокарда и мозговых оболочек. Обычно патогенетической причиной данного явления считают гемодинамические нарушения [13]. Однако в настоящее время, благодаря новым технологиям и расширению знаний в области кардиологии, иммунологии и генетики продемонстрировано, что у многих детей с врожденными пороками сердца (ВПС) встречаются различные формы первичных иммунодефицитов (ПИД). Эти состояния могут характеризоваться снижением как клеточных параметров иммунитета, так и гуморальных [16]. Впервые взаимосвязь между врожденными пороками сердца и первичными иммунодефицитами была отражена в случаях синдрома ДиДжорджи, характеризующегося врожденными пороками сердца, лицевыми дисморфиями, гипоплазией тимуса, расщелиной неба и гипокальциемией (САН-22) [153]. На сегодняшний день зарегистрировано более десятка таких синдромов, однако не всегда ВПС являются частью симптомокомплекса синдрома ПИД, не исключается возможность сочетанной иммунной и сердечно-сосудистой патологии.

Одной из наиважнейших проблем сегодняшнего времени является гиподиагностика таких заболеваний, ведь дети, у которых сочетаются ПИД и ВПС, зачастую, не доживают и до двух лет. ПИД у таких детей скрывается за клинической картиной гемодинамических нарушений и ускользает от взора врача педиатра или кардиолога [25]. Особое место занимают случаи тяжелейшего послеоперационного периода, долго незаживающие послеоперационные раны, где причинно-значимыми могут быть проблемы в процессах репарации, в которых иммунная система занимает далеко не последнее место, а является одной из ключевых элементов в процессах барьерной защиты, дифференцировки клеток, формировании специфического

клеточного микроокружения для нормального протекания процессов заживления, с последующим развитием септического процесса, что в итоге приводит к летальному исходу [77].

В нашей работе были проанализированы сведения о течении беременностей с целью выявления факторов, способствующих раннему выявлению у детей иммунозависимой патологии, ассоциированной с ВПС уже в пренатальном периоде. Основными критериями, которые учитывались при анализе, являлись возраст матери на момент родов, наличие и факторов, отягощающих течение беременности, угрозы прерывания беременности и акушерской патологии.

Причинно-следственные связи между возрастом матери на момент беременности и ВПС у рожденного ребенка в современных литературных источниках не являются однозначными. В ряде ранних исследований авторы указывают на наличие прямой корреляции «возраст матери – вероятность формирования ВПС у ребенка», особенно для женщин старше 35 лет. С другой стороны, в современных исследованиях данная тенденция не наблюдалась, хотя авторы и не исключают возможность ошибочного анализа данных из-за относительной редкости такой патологии как ВПС.

Полученные данные в нашей работе согласуются с современными данными, и средний возраст матерей на момент родов составил 29,8 лет (рисунок 14).

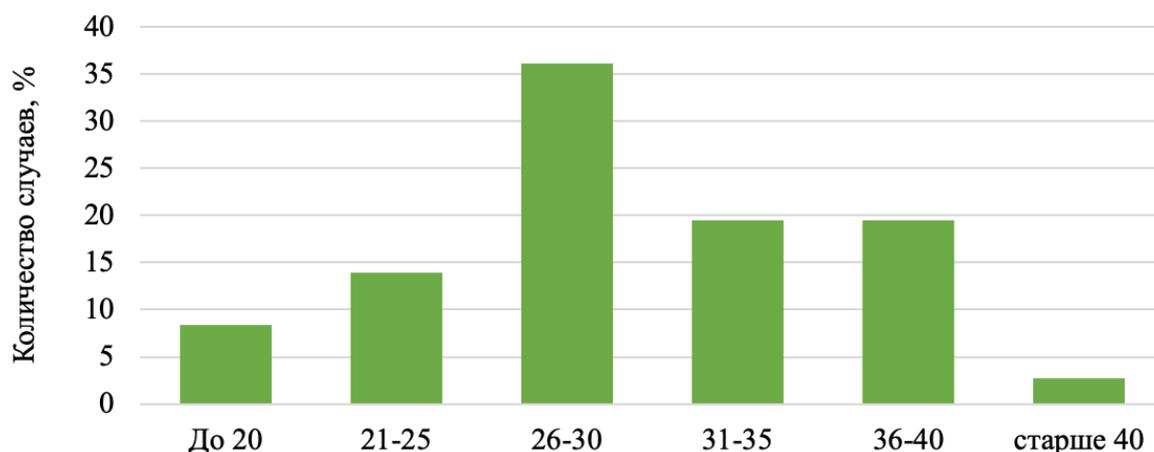


Рисунок 14 – Возраст матери на момент родов

Известно, что важнейшими аспектами для проявления заболеваний являются наследственность и ее взаимодействие с окружающей средой.

В исследуемой группе детей были случаи отягощенного акушерского анамнеза у их матерей: невынашивания на ранних сроках (3 случая), медикаментозные аборты (3 случая), внематочные беременности (2 случая).

Характерной чертой матерей пациентов с ПИД и ВПС являлось наличие факторов, отягощающих настоящую беременность (*рисунок 15*).

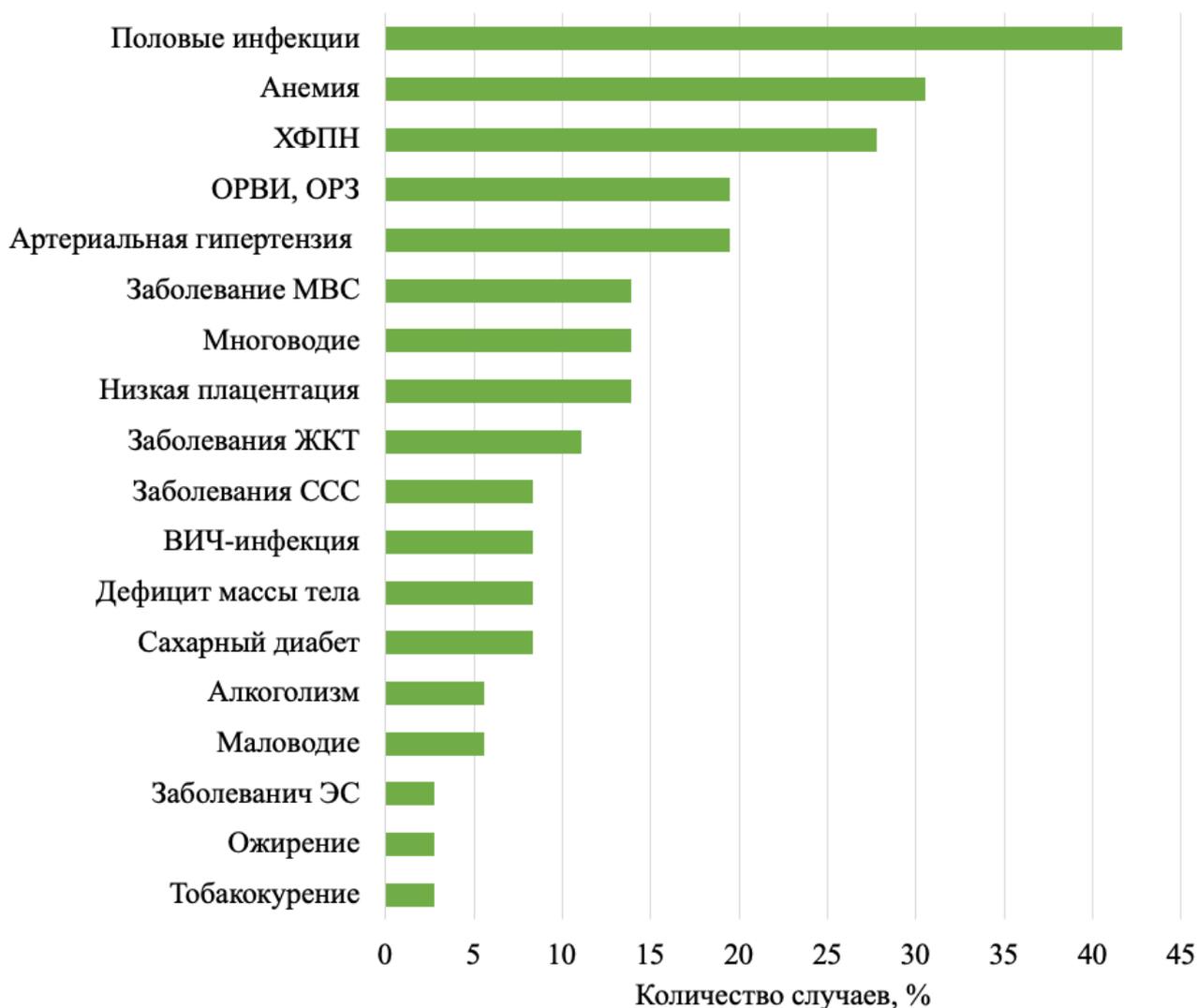


Рисунок 15 – Осложнения беременностей у матерей в исследуемой группе детей с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца

Примечание: ХФПН – хроническая фетоплацентарная недостаточность, ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция, ОРЗ – острое респираторное заболевание, МВС – мочевыделительная система, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, ССС – сердечно-сосудистая система, ВИЧ – вирус иммунодефицита человека, ЭС – эндокринная система.

Причем, несмотря на разные факторы, отягощающие беременность, большая их часть в том или ином виде приводят к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и питания плода. Данный факт может послужить причиной формирования врожденных ошибок развития.

В пяти случаях имела место угроза прерывания беременности: 3 случая в первом триместр и 2 – во втором.

Как известно, в неонатальном периоде, а также на протяжении еще первых двух лет жизни, иммунная система ребенка переживает ряд критических периодов, в течение которых организм сталкивается с множеством новых чужеродных антигенов. Поэтому, рекуррентные или хронические инфекции в педиатрической практике являются достаточно распространенным явлением. Поэтому необходимым условием успешного дифференциального диагноза ПИД на фоне врожденной сердечной патологии является наличие осведомленности и высокой степени настороженности у специалистов кардиологического профиля в отношении данных заболеваний.

В исследуемой нами группе средний гестационный возраст детей на момент рождения составил 34,4 недели (Ме – 36,0) (рисунок 16).



Рисунок 16 – Структура постмортальных случаев по степени недоношенности

Для полноценной и информативной характеристики пациентов с первичными иммунодефицитами с врожденными пороками сердца, сформировали 3 группы: дети с экстремальной и глубокой недоношенностью (группа 1, n=10), дети с недоношенностью средней и легкой степени (группа 2, n=16) и доношенные (группа 3, n=12).

В 69% случаев дети рождались с антропометрическими отклонениями, согласующимися со сроками гестации детей при их рождении. Это отразилось в отсутствии статистической значимости различий между основной группой и группой условно здоровых детей.

Средний вес ребенка с экстремальной и глубокой недоношенностью на момент рождения составил 836 ± 316 г (Me – 760 г), со средней и легкой степенью недоношенности – 2281 ± 198 г (Me – 2260 г) и у доношенных – 3064 ± 151 г (Me – 3180 г) (рисунок 17).

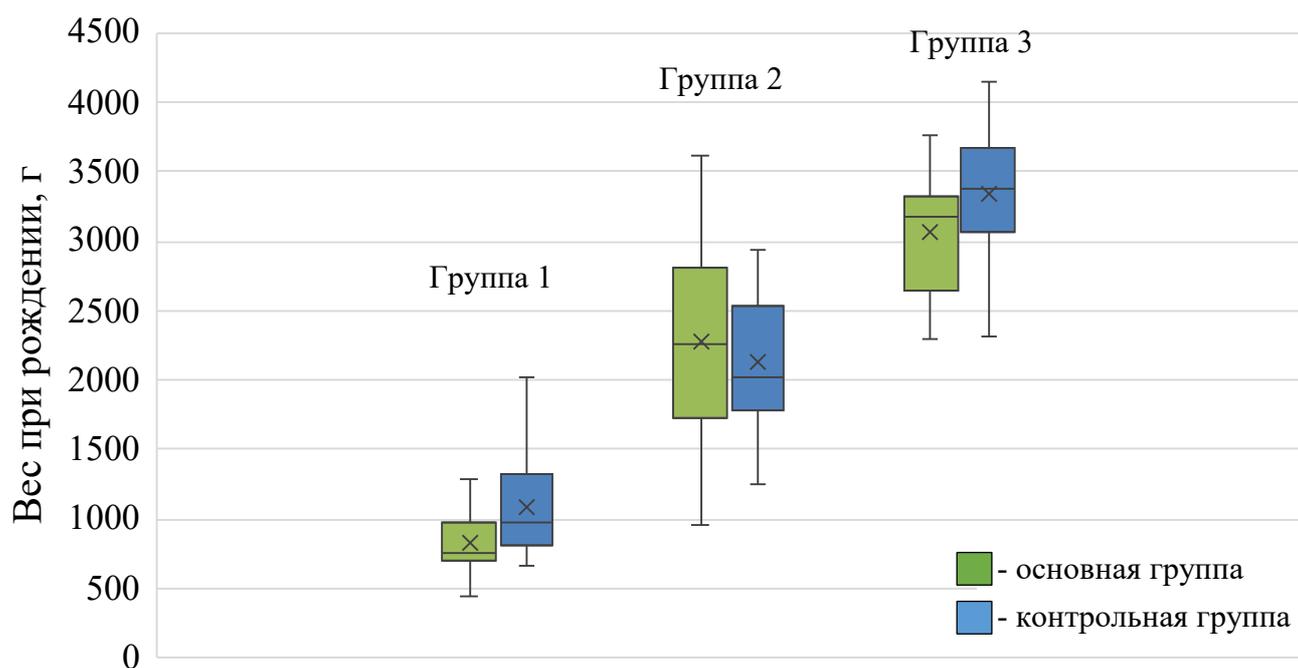


Рисунок 17 – Вес детей исследуемых групп при рождении

Примечание: основная группа – дети с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца; группа 1 – экстремально и глубоко недоношенные дети (n=10), группа 2 – дети с недоношенностью средней и легкой степени (n=16), группа 3 – доношенные новорожденные (n=12).

При анализе состояния здоровья ребенка на момент рождения учитывались оценки по шкале Апгар на 1 минуте жизни (рисунок 18).

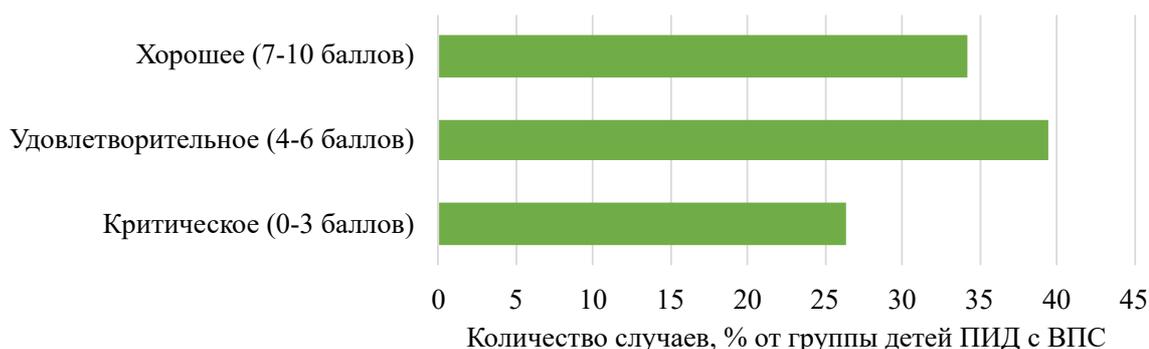


Рисунок 18 – Состояние здоровья ребенка на 1 минуте жизни, оцениваемое в баллах по шкале Апгар

У 26% детей исследуемой группы с врожденными пороками сердца при первичном иммунодефиците состояние здоровья на 1 минуте жизни расценивалось как критическое, причиной этого явления несомненно являлась незрелость систем организма вследствие недоношенности, а также ряд гемодинамических нарушений, являющихся результатом проявления врожденных пороков сердца.

Варианты врожденных пороков сердца очень разнообразны, начиная от нарушений клапанного аппарата до наличия нефункциональных отверстий между камерами сердца, включая и транзиторные пороки, такие как открытое овальное окно и открытый артериальный проток (*рисунок 19*).



Рисунок 19 – Спектр врожденных пороков сердца у пациентов с врожденными ошибками иммунитета

Спектр приведенных пороков сердца полностью соответствует описанным выше данным о клинических проявлениях врожденных ошибок иммунитета.

Основываясь на анализе медицинской документации пациентов и патологоанатомических исследований, было выявлено, что обнаружение признаков иммунозависимой патологии возможно только лишь при использовании современных медицинских технологий. В случае исследуемой группы визуализированным признаком иммунодефицитного состояния было уменьшение размеров тимуса при ультразвуковом исследовании. Выявленные у исследуемых детей аномалии тимуса, особенно его гипо-/ аплазированное состояние или диспластические изменения органа (79% случаев), могут свидетельствовать о нарушениях в системе Т-клеточных и регуляторных параметров иммунной системы.

В качестве критерия, объективирующего наличие иммунозависимой патологии, был проведен количественный анализ TREC и KREC в сухих пятнах крови, взятых на 4 сутки для доношенных и 7 сутки для недоношенных детей, соответственно.

У всех пациентов, входящих в анализируемые группы, показатели TREC и KREC достоверно не достигали значений референсных пределов ($p < 0,05$), отраженных в главе 4. Средние значения для группы экстремально и глубоко недоношенных пациентов TREC – 129 копий / 10^5 лейкоцитов (Me – 99 копий / 10^5 лейкоцитов), KREC – 197 копий / 10^5 лейкоцитов (Me – 133 копий / 10^5 лейкоцитов); для недоношенных легкой и средней степени - TREC – 205 копий / 10^5 лейкоцитов (Me – 155 копий / 10^5 лейкоцитов), KREC – 275 копий / 10^5 лейкоцитов (Me – 40 копий / 10^5 лейкоцитов); для доношенных TREC – 435 копий / 10^5 лейкоцитов (Me – 490 копий / 10^5 лейкоцитов), KREC – 572 копий / 10^5 лейкоцитов (Me – 127 копий / 10^5 лейкоцитов) (рисунки 20 - 21).

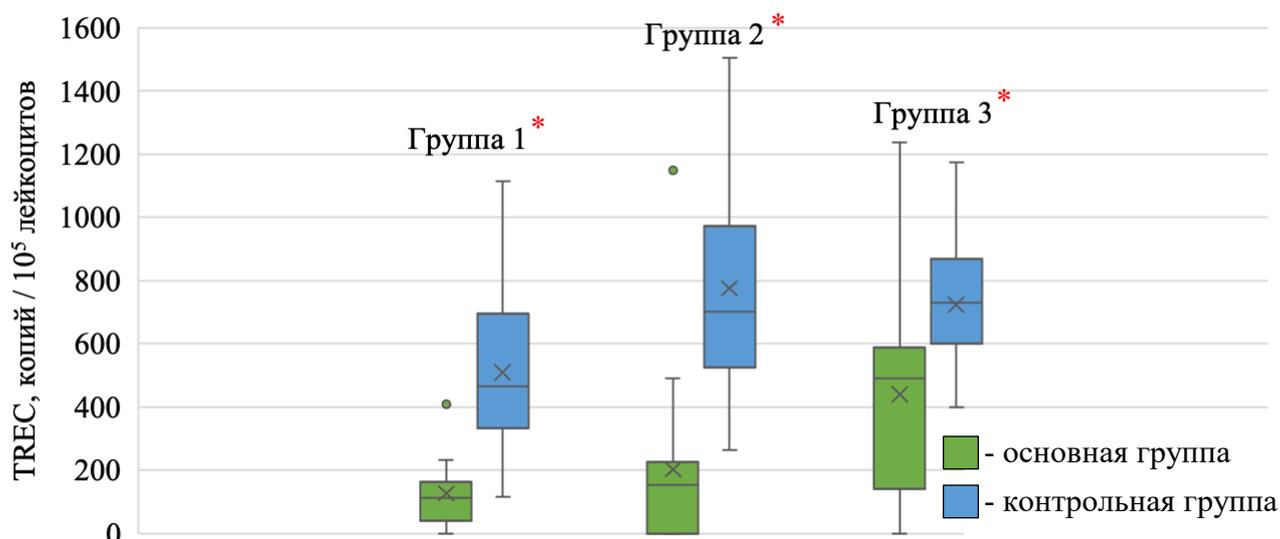


Рисунок 20 – Количество молекул TREС в образцах сухой крови пациентов с врожденными ошибками иммунитета и пороками сердца

Примечание: основная группа – дети с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца: группа 1 – экстремально и глубоко недоношенные дети (n=10), группа 2 – дети с недоношенностью средней и легкой степени (n=16), группа 3 – доношенные новорожденные (n=12); * - достоверные отличия (p<0,05).

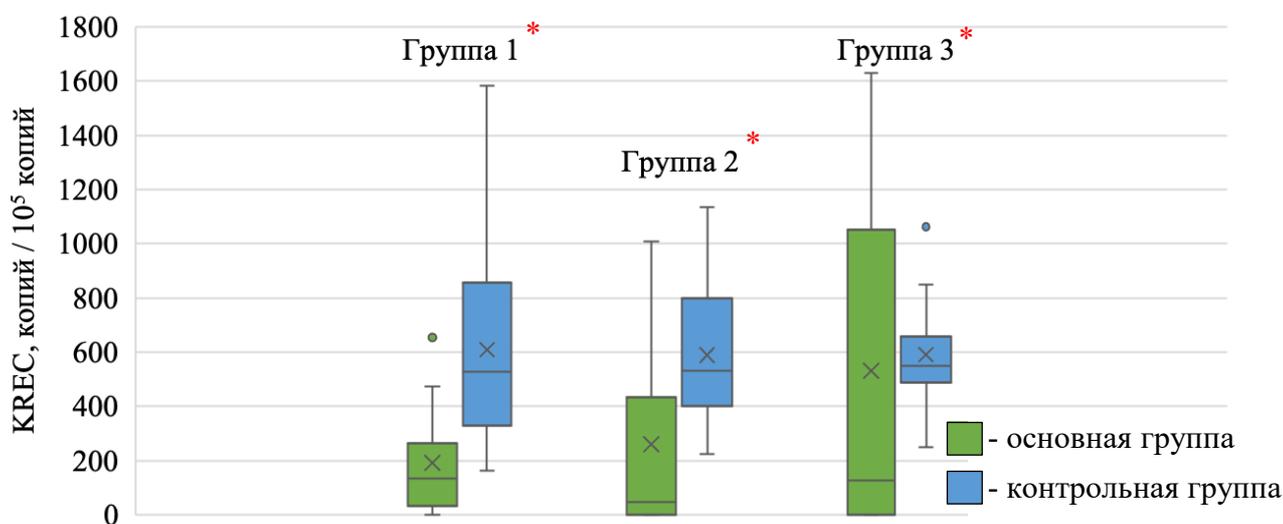


Рисунок 21 – Количество молекул KREC в образцах сухой крови пациентов с врожденными ошибками иммунитета и пороками сердца

Примечание: основная группа – дети с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца: группа 1 – экстремально и глубоко недоношенные дети (n=10), группа 2 – дети с недоношенностью средней и легкой степени (n=16), группа 3 – доношенные новорожденные (n=12); * - достоверные отличия (p<0,05).

Во всех исследуемых нами группах были достоверно снижены показатели Т- и В-клеточных параметров, что подтверждает наличие первичного иммунодефицита у данных детей (таблица 7).

Таблица 7 – Результаты TREC и KREC у детей с первичными иммунодефицитами, установленными постмортально

Степени недоношенности	Основная группа		Контрольная группа	
	TREC, копий / 10 ⁵ лейкоцитов	KREC, копий / 10 ⁵ лейкоцитов	TREC, копий / 10 ⁵ лейкоцитов	KREC, копий / 10 ⁵ лейкоцитов
Экстремальная и глубокая степень недоношенности	n=10		n=40	
	99* (41; 162)	133* (32; 164)	464 (336; 675)	529 (337; 783)
Недоношенность легкой и средней степени	n=16		n=20	
	155* (0; 188)	40* (0; 432)	701 (594; 947)	530 (414; 756)
Доношенные новорожденные	n=12		n=20	
	490* (140; 590)	127* (0; 1050)	729 (606; 845)	550 (487; 642)

Примечание: Me (Q1; Q3), *- достоверные отличается от контрольной группы (p<0,05)

Несмотря на разнообразие клинических проявлений пациентов, входящих в анализируемую группу: гипоплазия тимуса, тромбогеморрагический синдром, анемия, энцефалопатия, пневмония, генерализованная инфекция, гипотрофия, задержка внутриутробного развития, врожденные пороки развития моче-выделительной, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, неврологические проявления, бронхо-легочная дисплазия, лейкопении; диапазон непосредственных причин смерти таких детей достаточно ограничен, так как ведущими патогенетическими единицами были первичные иммунодефициты и врожденные пороки сердца (рисунок 22).



Рисунок 22 – Спектр непосредственных причин смерти детей с врожденными ошибками иммунитета и пороками сердца

Известно, что генерализации инфекционного процесса в раннем младенческом возрасте способствуют анатомо-физиологические особенности иммунной системы новорожденных, в частности, неадекватность иммунного реагирования, обусловленная функциональной несостоятельностью иммунитета. Причины смерти «ранний неонатальный сепсис» и «полиорганная недостаточность» в 62% (рисунок 22) позволяет сделать вывод о том, что мультифокальность поражений и генерализация инфицирования является достоверным признаком первичного повреждения иммунитета. В 7% случаев факт раннего неонатального сепсиса описывался в послеоперационном периоде. На следующем месте в рейтинге причин смертности детей с ПИД и ВПС находятся сердечная и дыхательная недостаточность, что является вполне ожидаемым в рамках исследования пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Лишь у 3 пациентов прижизненно лабораторно подтвержден был синдром ДиДжорджи, у 1 – синдром CHARGE. Для всех остальных постановка диагноза «первичный иммунодефицит» была произведена уже постмортально, при анализе медицинской документации пациентов. Также среди анализируемых постмортальных случаев были описаны 3 случая

синдрома трисомии 21 (синдром Дауна) хромосомы и 1 случай трисомии хромосомы 18 (синдром Эдвардса).

Клинический случай 1. Синдром CHARGE

Пациент А. Пациент от 4 беременности, 1 родов (1-3 беременности – медикаментозный аборт) на фоне алкоголизма в ОПЗ в первом триместре. Родилась преждевременно на 33 неделе гестации в процессе оперативных родов. Масса тела при рождении 1600 г (маловесная к сроку гестации), длина тела 39 см, состояние тяжелое, оценка по шкале Апгар – 1/4 балла с рождения лимфопения показатели TREC и KREC на 7 сутки после рождения – 0 и 937 копий / 10^5 лейкоцитов соответственно.

Основным заболеванием, приведшим к летальному исходу девочки в возрасте 3 месяцев 25 дней, является первичный иммунодефицит «синдром CHARGE», развившийся вследствие обнаруженного дефекта в гене *CHD7*, для которого характерен комплекс наблюдающихся у девочки клинических (фенотипических) проявлений, а именно:

- множественные грубые пороки развития, входящие в аббревиатуру самого синдрома:
 - грубый порок глаза с отсутствием тканей глаза (от колобомы до крайних проявлений данного порока - анофтальма),
 - порок сердца (дефект межжелудочковой перегородки),
 - атрезия хоан (в данном случае костно-мембранная атрезия хоан с двух сторон,
 - дефект костей позвоночника (*spina bifida* поясничного отдела позвоночника –LIII),
 - дефект костей лицевого скелета (у девочки субмандибулизм – микрогнатия, плоская запавшая переносица),
 - дефект костей грудной клетки («бочкообразная» грудная клетка)
 - незавершенный хондрогенез костной ткани,
 - не исключен дефект гортани, отмечаемый при попытках проведения интубации,

- нарушение строения главного органа иммунитета – тимуса (отсутствие деления на слои, тельца Гассалья мелкие, хаотично измененные, с фестончатыми краями, признаки раннего старения тимуса – морфологические признаки жирового патоморфоза),
- гиперплазия лимфоидной ткани и лимфоидных органов, носящая компенсаторный характер,
- лимфопения с рождения.

Осложнениями указанного основного заболевания стали: развившийся тромбогеморрагический синдром, синдром системного воспаления и двусторонняя гнойная пневмония, гидрорический нефроз, субатрофический гастрит, очаговая энцефаломалиция.

Летальный исход был непредотвратим, а патология не совместима с жизнью.

Клинический случай 2. Синдром Дауна с тяжелым иммунодефицитом и ВПС

Пациент Б. Мальчик от третьей беременности, третьих родов (1, 2 – сибсы здоровы). Масса при рождении 2030 г, рост 45 см, окружность головы 29 см, окружность груди 27 см. Оценка состояния здоровья по шкале Апгар – 6/7 баллов. Недоношенность 35-36 недель. Низкая масса тела при рождении (маловесный к сроку гестации). Церебральная ишемия средней степени тяжести, морфофункциональная незрелость головного мозга. Неонатальная желтуха открытый артериальный проток, функционирующее овальное окно. Синдром Дауна. Пиелэктазия слева. Группа риска по тугоухости.

Течение беременности: хроническая фетоплацентарная недостаточность, маловодие.

Течение родов: преждевременные самостоятельные, отягощенный акушерский анамнез (рубец на матке – следствие оперативных родов).

С рождения состояние средней степени тяжести за счет неврологической симптоматики, незрелости. Адаптировался в условиях инкубатора, с рождения

обращают на себя внимание фенотипические проявления синдрома Дауна. Неврологический статус: вялый, малоактивный, гипорефлексия, гипотония. Вскармливание с 1 суток (усваивает нормально) желтуха со 2 суток. На 5 сутки переведен в отделение патологии новорожденных (ОПН) с прежними показателями по тяжести состояния с диагнозом: асфиксия легкой степени с рождения. В условиях ОПН состояние ребенка стабилизируется выданы рекомендации, ребенок выписывался с отказом матери от дальнейшего лечения.

В возрасте 2,5 месяцев – перенес внутрибольничную 2-стороннюю пневмонию (тяжелая форма), бронхиолит (тяжелая форма) на фоне анемии 3 степени. В ходе лечения состояние стабилизировалось по признакам лабораторных и инструментальных данных, воспалительные процессы и анемия купированы. Стационарный этап лечения не окончен. Мать ребенка отказалась от дальнейшего стационарного лечения. Через 3 дня ребенок скончался. Причина смерти – дыхательная недостаточность, являющаяся исходом пневмонита (МКБ10 – J 69.8). в заключении судебно-медицинского эксперта – генерализованная вирусно-бактериальная инфекция: катаральный трахеит с гиперсекрецией желез, бронхит, очаговая серозно-макрофагальная пневмония. Очаговый гепатит. Серозный менингит. Акцидентальная инволюция тимуса 2 фаза. Венозное полнокровия и паренхиматозная дистрофия внутренних органов, мелкоочаговые кровоизлияния в мозговом слое гипоплазированных надпочечников. Отек стромы миокарда. Отечно-дистрофическая энцефалопатия.

Таким образом, имевшая место хромосомная патология – синдром Дауна, полная регулярная трисомия 21 хромосомы, вариант проявления – с тяжелым иммунодефицитом, включающим гипоплазию тимуса с акцидентальной инволюцией, стала одним из первичных факторов развития генерализованного гнойно-септического процесса, приведшего к полиорганной недостаточности.

Клинический случай 3. Синдром Эдвардса с тяжелым иммунодефицитом и ВПС

Пациент В. Мальчик от 6 беременности, 2 родов (предыдущие беременности закончились 4 медикаментозными абортами и 1 родами). Заболевания матери: желче-каменная болезнь, хр. калькулезный холецистит, хр. пиелонефрит, с-м вертебро-базиллярной артерии.

Мать на учете по беременности с 11 недель, 10-11 неделя – гестационный сахарный диабет, возраст матери – 41 год, в 19-20 недель выявлены множественные ВПР плода (гипоплазия мозолистого тела, субаортальный дефект межпредсердной перегородки, единственная С-образная почка). Кариотип плода – трисомия по 18 хромосоме (с-м Эдвардса), кариотип 47, XY+18.

Роды экстренные, самостоятельные, стремительные, срок гестации 22-23 недели, головное предлежание. Многоводие. Хроническая фетоплацентарная недостаточность с синдромом задержки развития плода 2 ст., симметричный тип, нарушение маточно-плацентарного кровообращения 3 ст. продолжительность родов 80 мин, очень длительный безводный период – 3 дня 5 ч 55 мин.

Оценка по шкале Апгар – 3/5. При рождении: масса тела 920 г, длина тела 34 см, окружность головы 24 см, окружность груди 25 см. Состояние с рождения тяжелое за счет дыхательной недостаточности, множественных врожденных пороков развития (атрезия пищевода, нижний трахеопищеводный свищ, общий аортальный проток, дефект межпредсердной перегородки, функциональное открытое овальное окно, единственная С-образная почка) и незрелости. На искусственной вентиляции легких (ИВЛ). В 1-е сутки жизни отмечались трудности постановки желудочного зонда. Проведена обзорная рентгенография органов грудной клетки. На контрольных снимках диагностирован напряженный пневмоторакс справа, наличие контраста в право плевральной полости. Установлен дренаж в плевральную область, получен сброс воздуха. Наложена дренажная система по Бюлау.

Начата активная аспирация содержимого ротоглотки. Переведен на высокочастотную ИВЛ в связи с нарастающей дыхательной недостаточности. На контрольных рентгенограммах отмечалось увеличение в объеме желудка за счет газа. Учитывая данные анамнеза, клинической картины, лабораторно-инструментального исследования формируется подозрение на наличия врожденный порок развития желудочно-кишечного тракта: атрезия пищевода с нижним трахеопищеводным свищем. Ребенку показано оперативное лечение в неотложном порядке. Однако, учитывая тяжесть состояния от оперативного лечения в полном объеме решено было отказаться. После предварительной подготовки, трансфузии тромбоконцентрата с заместительной целью (учитывая тромбоцитопению) проведено оперативное вмешательство: лапоротомия, ушивание дефекта стенки желудка, гастростомия по Кадеру. Сохраняется зависимость от респираторной терапии. Диагноз после операции: ВПР. Атрезия пищевода. Нижний трахеопищеводный свищ. Перфорация орального сегмента пищевода. Пневмоторакс справа, медиастенит. Разрыв желудка. Перитонит. Гемодинамика стабильная. На 5-е сутки после операции начато энтеральное питание. С 10 суток жизни отмечался интенсивный прирост билирубина за счет прямой фракции, гепатоспленомегалия. Выявлены дополнительные пороки развития: атрезия хоан, аплазия тимуса. Отмечалось нарастание маркеров воспаления, в связи с чем проводилась коррекция антибиотикотерапии. На фоне проводимой терапии состояние оставалось тяжелым. Нарастала ДН, появилась анемия (купирована). После перевода на высокочастотную ИВЛ с жесткими параметрами вновь появился геморрагический синдром появился синдром полиорганной недостаточности. На фоне прогрессирования синдром полиорганной недостаточности произошла остановка сердечной деятельности.

Таким образом, у ребенка – грубая наследственная патология (с-м Эдвардса), протекающая с грубыми нарушениями иммунитета в виде нарушенной репарации, нерегулируемого воспаления. О наличии иммунопатологии свидетельствует аплазия тимуса у ребенка, лимфопения,

компенсаторный моноцитоз, стремительность генерализации процесса, с неадекватным воспалительному процессу спектру выделенных микроагентов.

Гиподиагностика является одной из наиглавнейших проблем медицины на протяжении всего ее существования. Однако в настоящее время имеется все необходимое для превентивной и ранней диагностики наследственных заболеваний. Использование передовых методов молекулярной диагностики и расширение программ неонатального скрининга могут стать одними из возможных решений данной проблемы.

Самым неутешительным аспектом данного раздела работы является тот факт, что всем пациентам из аналитической группы диагноз ПИД был установлен постмортально. Также важным представляется популяризация знаний, получаемых в научной и профессиональной среде, для увеличения степени настороженности врачей-специалистов, так как за такими синдромами как сердечная и дыхательная недостаточность, характерными для пациентов с ВПС, могут скрываться и другие заболевания, в частности, ПИД, которые проявляются не только в виде раннего неонатального сепсиса, который практически невозможно контролировать. Уже на данном этапе работы, можно говорить о реальной важности совершенствования пренатальной диагностики, расширения спектра заболеваний, диагностируемых в рамках неонатального скрининга, а также разработки новых протоколов ведения пациентов с сочетанной патологией.

Список опубликованных работ по результатам исследования, представленных в 5 главе

1. Новые достижения генетического анализа иммунной патологии / *Д.А. Черемохин, 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). Екатеринбург, 2020. С. 677-679.

2. Ретроспективный анализ случаев первичных иммунодефицитов у детей с врожденными пороками сердца / *С.С. Дерябина, Д.А. Черемохин, 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 (ИФРИНЦ – 0.253; PubMed).

3. 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). Харьков, 2020. С. 319-320.

4. 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.

ГЛАВА 6 – ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ СИНДРОМА ДЕЛЕЦИИ 22Q11.2

Синдром делеции 22q11.2 – один из ярчайших примеров первичного иммунодефицита с врожденными пороками сердца. На сегодняшний день встречаемость данного синдрома в Свердловской области по данным регионального регистра составляет 1 на 9895 [3, 4]. Исследование данной группы было проведено с целью описания степени вариабельности симптомокомплексов у пациентов с данной наследственной болезнью, а также молекулярно-генетические варианты нарушений региона q11.2 хромосомы 22.

Хромосомные аномалии – одна из немногих причин, приводящих к формированию врожденных пороков развития (ВПР), аномалий гендерного развития и психоневрологических симптомов, клиническими проявлениями которой могут быть внутриутробная и постнатальная задержка развития и роста, часто сопровождающихся умственной отсталостью, множественными врожденными пороками развития, лицевыми дисморфизмами, нарушением половой дифференцировки, репродуктивными проблемами. Эффективность диагностики хромосомных аномалий как в пре-, так и в постнатальном периоде во многом зависит от критериев отбора пациентов, подозреваемых в наличии хромосомных аномалий и от применяемых методов выявления наследственной патологии. Микроделеции – это нуклеотидные «вырезки», размеры которых составляют, как правило, не более 3 млн. пар оснований и находятся за гранью разрешающей возможности световой микроскопии [95]. Формирование микроделеционных синдромов происходит в виду потери строго определенных областей генетического аппарата, которые содержат определенные гены, что приводит к формированию, характерных для недостаточности белковых продуктов этих генов, симптомокомплексов, называемых микроделеционными синдромами [125, 171]. Наиболее известными из этих генетических заболеваний являются синдромы Вильямса-Бойрена (del7q11), Прадера-Вилли/Ангельмана (15q11), микроделеции 22q11.2 (фенотипы синдромов ДиДжорджи и вело-кардио-фациального,

синдрома конотрункальных и лицевых аномалий), Вольфа-Хиршхорна (4p), Смита-Магениса (17p11.2), Миллера-Дикера (17p13.3). Фенотипическая проявления этих нозологических форм детально описаны и характеризуется широкой вариабельностью.

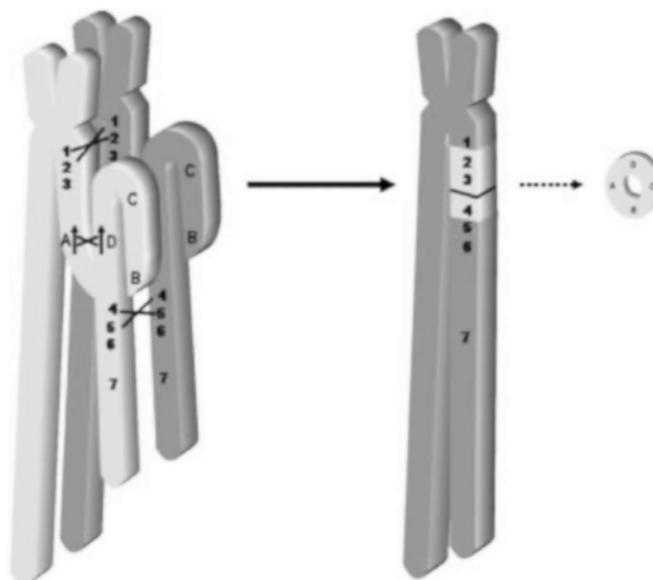


Рисунок 23 – Схематическое изображение мейотической рекомбинации между гомологичными хромосомами 22 [76]

Примечание: крестиками обозначены места перестановки. Номера с 1 по 7 представляют ДНК-маркеры F8VWFP2, D22S420, D22S427 (проксимальные области делеции), D22S303, D22S257, TOP1P2 (дистальные области делеции) и D22S302 (контроль в 22q13), соответственно. А, В, С и D представляют собой регионы А, В, С и D соответственно.

Синдром делеции 22q11.2 – болезнь, которая характеризуется, микрохромосомной аномалией, возникающей в результате неаллельной рекомбинации во время сперматогенеза или овогенеза. При этом на длинном плече 22 хромосомы происходит выпадение нуклеотидной последовательности размером от 1,5 до 3 тысяч пар основания. На *рисунке 23*, опубликованном в зарубежной статье, схематично изображен механизм формирования делеции – внутривитаминное смещение направленных повторов (внутривитаминная петля) с вырезанием, приводящим к делеции. Между гомологичными хромосомами происходит два межхромосомных обмена: одной проксимальной и одной дистальной области. Это приводит к делеции, включающей 4 критических региона А, В, С и D – блоков

низкокопийных повторов. Данные события являются причиной нарушения на эмбриональном этапе развития третьей и четвертой жаберных дуг, что в итоге приводит, дезорганизации развития их производных в эмбриональном периоде – тимуса и паращитовидных желез. Почти в 90% случаев делеция характеризуется как «*de novo*», однако описаны случаи наследования данной патологии от родителей [76].

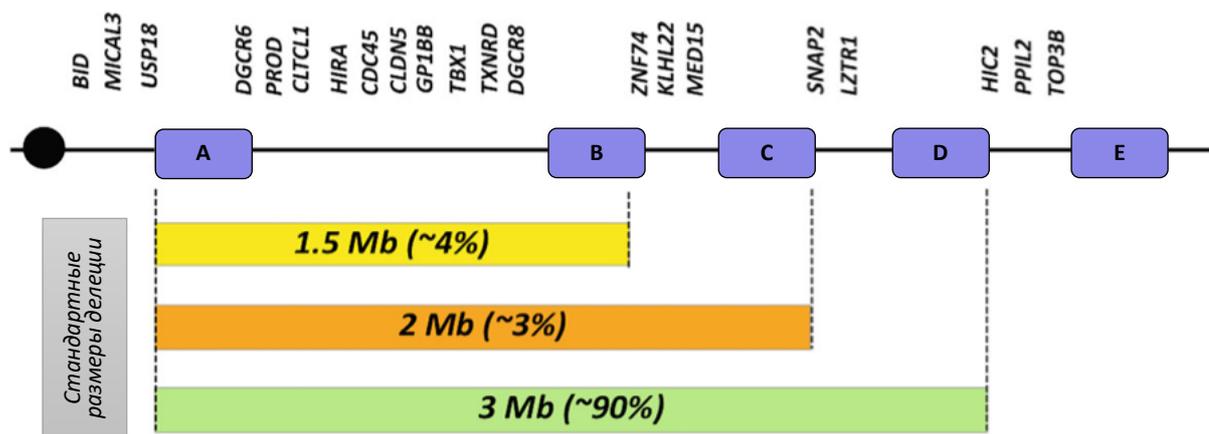


Рисунок 24 – Схематичное изображение региона q11.2 хромосомы 22

Примечание: черным кругом обозначена центромера, блоки А-Е обозначены фиолетовыми блоками, горизонтальными блоками обозначены стандартные делеции разных размеров и их частоты.

Работы по изучению генного состава этих регионов позволяют сделать выводы о значимости кодирующих фрагментов, которые могут являться причиной развития той или иной фенотипической картины синдрома делеции у разных пациентов [44, 81, 149]. Несмотря на то, что частоты вариативности длины делеции не столь высоки, важно сопоставлять генотип и фенотип, поскольку основной задачей современных диагностических служб является своевременная помощь в постановке диагноза и обеспечение обоснованной тактики лечения. Пренатальное выявление делеции 22q11.2 позволяет разработать стратегию ведения пациента еще до его рождения.

Проведено ретроспективное исследование развития болезни у детей с подтвержденными молекулярно-генетическими методами, нарушениями региона 22q11.2.

При выполнении исследования было проанализировано 56 историй болезни пациентов с аномалиями критического региона хромосомы 22, из них

52 случая с классической делецией 22q11.2(A-D), 1 случай делеции 22q11.2(B), 1 случай частичной делеции 22q11.2(A), 2 случая с дупликацией региона 22q11.2(A-D) и 1 случай дупликации регионов 22q11.2(A)+CES.

Говоря о классической делеции региона 22q11.2(A-D), необходимо учитывать фенотипическую гетерогенность синдрома Ди Джорджи. Каждый анализируемый случай являлся особенным, проявляющимся разными морфологическими аномалиями. Лишь у 58% пациентов выявлены нарушения тимуса, хотя данный симптом значится одним из основных в характеристике симптомокомплекса CATCH-22 (Cardiac defects, Abnormal facies, Thymic hypoplasia, Cleft palate, Hypocalcemia, 22q11 deletion). Одним из наиболее распространенных проявлений синдрома делеции 22q11.2 являются психоневрологические нарушения, которые были описаны в 90% случаев.

Самыми разнообразными в фенотипическом проявлении заболевания являлись врожденные пороки сердца, которые были выявлены в 72% представленных случаев (рисунки 25). Хотя они наблюдались практически у всех пациентов, спектр выявленных врожденных сердечно-сосудистых пороков оказался разнообразным, который проявлялся в аномалиях развития, начиная от магистральных сосудов и заканчивая наличием нефункциональных отверстий между камерами сердца.



Рисунок 25 – Спектр врожденных пороков сердца у пациентов с делецией стандартного размера региона 22q11.2.

Фенотипически такие дети уникальны, хотя и прослеживалась тенденция общих черт лица, строения тела. Аномалии строения черепно-лицевых структур у пациентов с делецией 22q11.2 включали аномалии строения и расположения ушных раковин, аномалии строения носа, глаз, расщелины губы и неба, асимметрию лица и деформации черепа (рисунок 26).



Рисунок 26 – Спектр микроаномалий развития у пациентов с делецией стандартного размера региона 22q11.2

Однако наличие только этих черепно-лицевых аномалий, в том числе вытянутого лица, не является патогномичным и может варьировать, особенно с учетом расовой принадлежности пациентов. Среди аномалий строения и расположения ушных раковин встречались: оттопыренность, низкопосаженность ушных раковин, асимметрия расположения и размера ушей, ротация ушных раковин кзади, микроотия, дисплазия ушных раковин, гипоплазия завитков, деформация слуховых косточек. Аномалии строения глаз: гипо-/ гипертелоризм, сужение разреза глаз, укорочение и асимметрия глазных щелей. Аномалии опорно-двигательного аппарата: гипермобильность суставов, асимметрия верхних и нижних конечностей, клинодактилия, шейный птериgium, дополнительные ногтевые фаланги, ассиметричный рост пальцев, вальгусная деформация стоп, плоскостопие.

Особое место среди клинических проявлений синдрома делеции 22q11.2 занимала психоневрологическая симптоматика (рисунок 27). Психомоторное развитие пациентов с данной патологией, как правило, отличается. В исследуемой нами группе пациентов с синдромом ДиДжорджи в 44% случаев наблюдалась задержка психоречевого развития, расстройства аутистического спектра у 6%, эпилепсия, задержка физического развития и миатонический синдром в 11% случаев, а задержка психо-моторного развития наблюдалась у 17% пациентов. У многих пациентов с делецией 22q11.2 наблюдалась гипотонию в неонатальном периоде, средний возраст начала хождения составлял 18 месяцев. Отмечали задержку речевого развития (начало в 2-3 года), однако специфические нарушения со стороны центральной нервной системы не характерны.



Рисунок 27 – Спектр психоневрологических проявлений у пациентов с делецией стандартного размера региона 22q11.2

Поведение пациентов с синдромом делеции 22q11.2 включает расторможенность и импульсивность с одной стороны, и застенчивость и замкнутость, с другой. Также в работах других исследователей наблюдались дефицит внимания, тревожность, сложности социализации [158]. Частота психиатрических расстройств, включая шизофрению, биполярные расстройства, депрессию, у таких пациентов повышена [29, 93].

Гипоплазия или аплазия тимуса у пациентов с синдромом делеции 22q11.2 приводит к иммунодефициту, который, в первую очередь, проявляется недостаточностью Т-клеточного звена иммунитета. В исследовании, проведенном группой американских исследователей, 60 пациентов с подтвержденной делецией 22q11.2 в возрасте старше 6 месяцев в 77% случаев отмечен и подтвержден иммунодефицит вне зависимости от наличия или отсутствия его клинических проявлений [120, 178]. Дополнительным частым признаком у больных с синдромом делеции 22q11.2 является аспирационная пневмония, связанная как с дисфагическими явлениями (частые поперхивания вследствие неправильного строения вело-фарингеальных структур), так и с иммунными нарушениями. Помимо типичных проявлений Т-клеточной недостаточности среди пациентов, входящих в анализируемую группу, встречались случаи снижения секреторного иммуноглобулина А ниже возрастных референсных значений, повышение концентрации IgM, эозинофилия, поллинозы, атопический дерматит.

В качестве критерия оценки состояния иммунной системы у пациентов с выявленной делецией критического региона q11.2 хромосомы 22 было проведено количественное исследование маркеров наивных Т- и В-клеток – TREC и KREC, соответственно (*таблица 8*). Учитывая проведенные нами ранее исследования TREC и KREC в группе пациентов, не имевших клинических признаков иммунодефицитов (n=80), описанные в 4 главе, в группе пациентов с синдромом делеции 22q11.2 обследовано 13 пациентов, вновь выявленных в процессе проведения настоящего исследования, у которых снижение TREC было выявлено у 6 пациентов из 15.

В 49% случаев наблюдалось снижение значений показателя TREC относительно референсных значений, полученных в контрольной группе. Это согласуется с данными, полученными при анализе фенотипических проявлений синдрома делеции, так как нарушения со стороны тимуса (гипоплазия) наблюдались лишь у 70% пациентов.

Таблица 8 – Количество TREC и KREC в образцах сухой крови, взятых для неонатального скрининга у детей с синдромом делеции 22q11.2 стандартного размера

№ п/п	Пациент	Количество TREC, копий/10 ⁵ лейкоцитов	Количество KREC копий/10 ⁵ лейкоцитов
1	P1	342 ↓	1739
2	P2	228 ↓	1049
3	P3	214 ↓	715
4	P4	418	1495
5	P5	882	644
6	P6	161 ↓	1223
7	P7	419	478
8	P8	560	514
9	P9	479	651
10	P10	513	578
11	P11	516	891
12	P12	216 ↓	2245
13	P13	62 ↓	163 ↓

Уникальными, в плане своей редкости, клиническими примерами являются случаи дупликации региона 22q11.2. В литературных данных представлено множество противоречивых мнений о данной хромосомной патологии. Одни авторы утверждают, что она является значимой в патогенезе заболевания, другие опровергают это.

В проведенном нами исследовании выявлены следующие факты. В одном из случаев описаны яркие клинические симптомы наследственной патологии: выраженная дизартрия, велофарингеальная недостаточность, микроотия наружного слухового прохода, деформация слуховых косточек. Несмотря на то, что в медицинской документации со стороны тимуса определенных нарушений не описывалось, в анамнезе имеются данные о перенесенных частых рекуррентных вирусных инфекциях респираторного тракта и поллинозах, что свидетельствует об иммунозависимой составляющей данного синдрома. В другом случае синдрома дупликации ни фенотипических, ни клинических проявлений описано не было.

Интересными являются случаи делеции нестандартных размеров. В наше поле зрения попали редкие случаи делеции 22q11.2 (B) и частичной делеции 22q11.2 (A), представленные ниже.

Клинический случай 4. Делеция субрегиона В

Пациент Г. – мальчик, доношенный от 5 беременности, 3 родов (1-я беременность – мальчик, несовершенный остеогенез в анамнезе; 2-ая беременность – медикаментозный аборт (м/а); 3-я беременность – сын, здоров; 4-ая беременность – м/а;), беременность протекала с хронической гипоксией плода и перинатальным поражением центральной нервной системы. Вес при рождении 3360 г, длина тела – 52 см. Направлен в медико-генетический центр в возрасте 8 лет по поводу микроаномалий развития (проксимальная синдактилия 2-3 пальцев правой стопы) и задержки психоречевого развития. Кроме того, были выявлены расстройства аутистического спектра, симптоматическая эпилепсия, миотонический синдром и нарушение сна, при сборе анамнеза был заподозрен синдром ДиДжорджи. Для уточнения клинического диагноза было проведено исследование методом VACs-on-Beads (VoBs) с целью поиска частого микроделеционного синдрома, однако желаемого результата обнаружить не удалось (рисунок 28), поэтому проведено молекулярно-генетическое исследование с более высокой разрешающей способностью – с большим покрытием региона 22q11.2, в частности, методом мультиплексной лигазозависимой амплификации (MLPA).

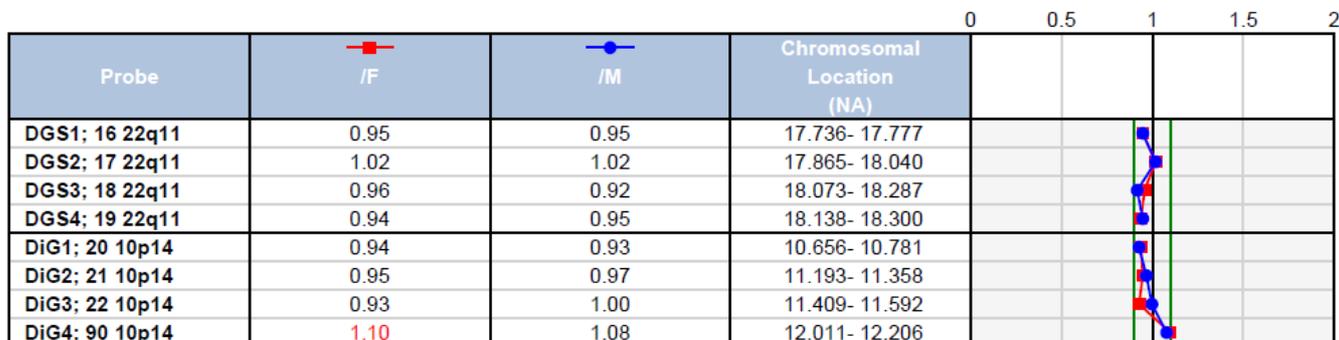


Рисунок 28 – Результат анализа доз генов методом VoBs для пациента Г. – делеций, ассоциированных с клиническими фенотипами синдрома ДиДжорджи не выявлено

В результате исследования обнаружена делеция региона 22q11.2 нестандартного размера, включающая субрегион В (рисунок 29), который не покрывается зондами при использовании метода VoVs.

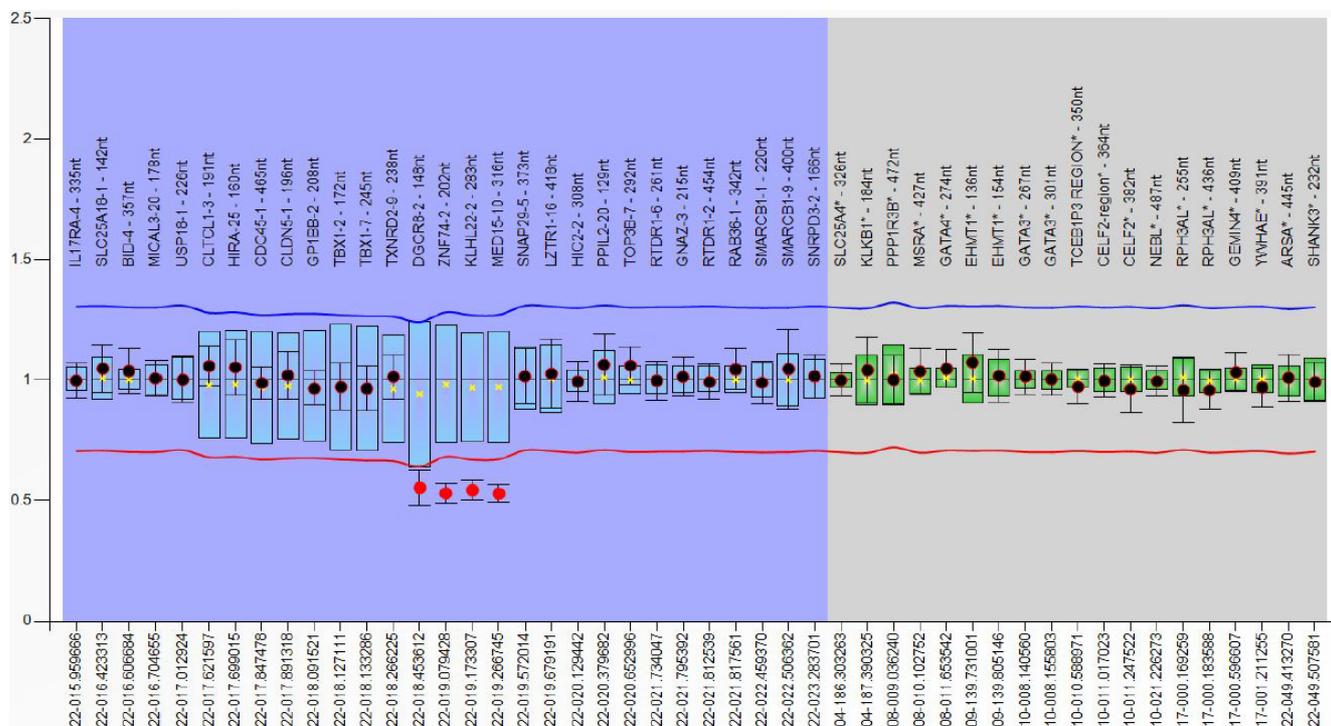


Рисунок 29 – Результат анализа доз генов методом MLPA для пациента Г. – делеция субрегиона В

Интересным является тот факт, что при такой неклассической делеции региона 22q11.2 не наблюлось таких наиболее частых проявлений данной патологии как врожденные пороки сердца, гипо- или аплазия тимуса и паращитовидных желез и лицевой дисморфизм. Вероятно, это объясняется тем, что в данный субрегион не входят гены, считающиеся основными триггерами при формировании фенотипа СATCH-22 – *TBX1* и *HIRA*.

Данный клинический случай отражает использования различных подходов к молекулярно-генетической диагностике. Использование дополнительных подтверждающих и уточняющих методов позволит расширить диагностические возможности лаборатории и сузить количество молекулярно неподтвержденных нозологий.

Клинический случай 5. Делеция субрегиона A

Пациент Д. – девочка, доношенная, от 1-ой беременности, осложненной кольпитом и пиелонефритом. В перинатальный период констатирован синдром задержки внутриутробного развития плода 3 степени по гипопластическому типу. Родилась в сроке 38 недель гестации с массой тела 1770 г, длина тела 44 см, длина окружности головы 32 см. При детальном осмотре профильными специалистами был обнаружен ряд неврологических проблем: тетраветрикулярная обструктивная гидроцефалия, дистрофически-атрофическая энцефалопатия, спастический тетрапарез, бульбарный синдром, выраженная задержка психо-речевого развития, атрофия зрительных нервов, горизонтальный нистагм. Помимо неврологической патологии, клиническая картина осложнена врожденными пороками сердца (дефект межжелудочковой патологии, открытый артериальный проток), пороком мочевого системы (уретерогидронефроз), другими аномалиями развития (добавочный трахеальный бронх, дисплазия ушных раковин), пороком развития иммунной системы в виде гипоплазии тимуса. Все вышесказанное сформировало единый патологический синдром, классифицируемый как один из синдромов врожденных ошибок иммунитета (в предшествующих классификациях «первичный иммунодефицит»), в клинических проявлениях которого, кроме множественных пороков развития, отмечалось тяжелое течение инфекций, в том числе оппортунистических, и нарушения репарации. Клинические проявления иммунодефицита в данном случае - интерстициальная пневмония и генерализованная оппортунистическая бактериальная инфекция (*Serratia marcescens* и *Enterococcus faecalis*).

Исходя из данных, полученных при сборе анамнеза заболевания, был заподозрен синдром ДиДжорджи, что требовало молекулярно-генетической верификации. Для подтверждения диагноза было проведено исследование методом MLPA, при котором была обнаружена микроделеция части субрегиона A локуса 22q11.2 (рисунок 30). В отличие от предыдущего

клинического примера, данная делеция захватывала ген *TBX1*, что, вероятно, привело к такой яркой синдромальной картине.

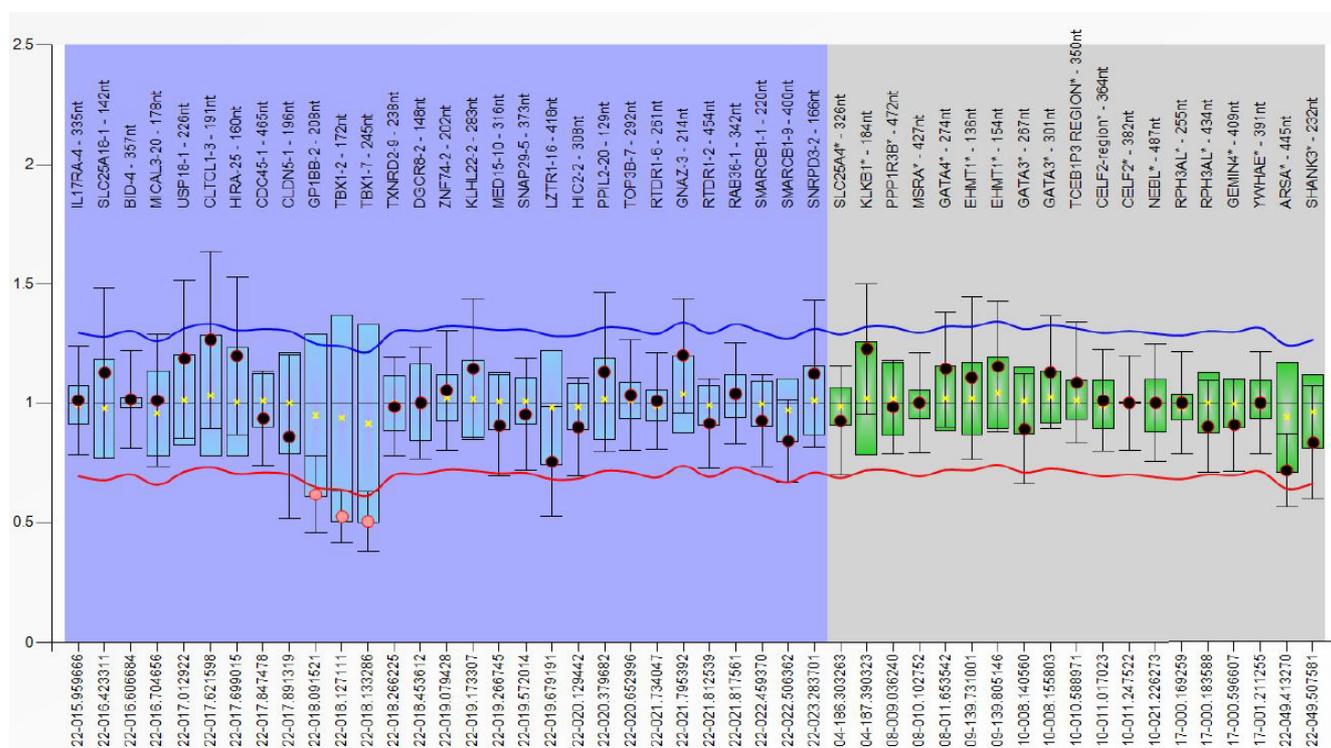


Рисунок 30 – Результат анализа доз генов методом MLPA для пациента Д. – выявлена частичная делеция субрегиона А

Клинический случай 6. Дупликация критических регионов DDS и CES

Пациент Е. – девочка от 5 беременности 2 родов (1 – м/а; 2 – сын, здоров; 3, 4 – м/а). Родилась преждевременно – на 36 неделе гестации с весом 2530 г, длина тела – 50 см, длина окружности головы – 31 см. Беременность протекала на фоне хламидиоза, трихомониаза и хронической фетоплацентарной недостаточности. В перинатальный период поставлен диагноз «синдром задержки развития плода 2-3 степени». При обследовании в медико-генетическом центре фенотипически были отмечены следующие аномалии развития: плоский симметрично скошенный затылок, деформация лобной кости – западение в латеральных областях, поперечная борозда левой ладони, поперечная расщелина неба, врожденные пороки сердца (дефект межпредсердной перегородки и стеноз клапана легочной артерии), дефицит

массы тела и глубокая задержка психомоторного развития. Относительно клинической картины был заподозрен синдром Ретта, и материал пациента был отправлен в лабораторию для молекулярно-генетической верификации диагноза. В результате проведения мультиплексной лигазозависимой амплификации проб с последующим анализом доз генов входящих в набор SALSA MLPA Probeset P324 22q11 (MRC Holland) была обнаружена дупликация региона 22q11.2, захватывающая стандартную область делеции 22q11(A-D) при синдроме ДиДжорджи и область, при делеции которой формируется клиническая картина синдрома «кошачьего глаза» (рисунок 31).

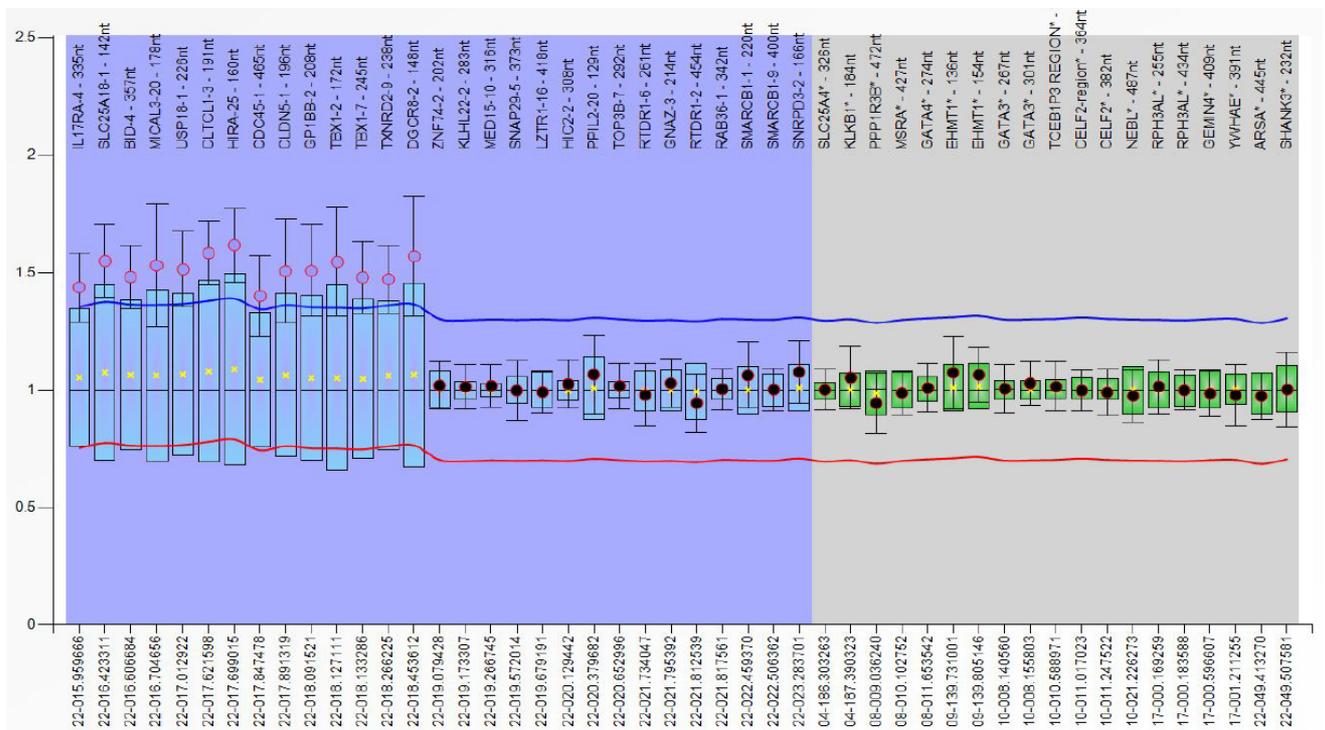


Рисунок 31 – Результат анализа доз генов методом MLPA для пациента Е. – выявлена дупликация региона 22q11.2(A-D) и региона, ответственного за развитие синдрома «кошачьего глаза»

Таким образом, представленные результаты наших исследований свидетельствуют о том, что синдромы делеции/дупликации региона 22q11.2 могут скрываться за различными «масками» врожденных аномалий, психоневрологических нарушений и другой патологии. Знание спектра фенотипических проявлений данных нозологических форм и узнавание ключевых знаков в каждом клиническом случае позволит использовать

оптимальный метод лабораторного подтверждения диагноза и сориентировать врача в выборе патогенетически обоснованной стратегии лечения пациента.

**Список опубликованных работ по результатам исследования,
представленных в 6 главе**

1. Вариативность симптомокомплекса САТСН-22 в рамках синдрома делеции 22q11.2 / *Д.А. Черемохин, 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-VOС-2363 (ИФ РИНЦ – 0.827; Scopus: Q4, IF- 0.6).

2. 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. Черемохин, Т.У. Арипова, Д.А. Мусаходжаева, З.С. Камалов*. Ташкент: Изд-во «Adast poligraf», 2022. 232 с.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 [15]. По данным Росстата в 2020 году количество случаев детской смерти в Российской Федерации составила 6489, из них 21,3% - дети с врожденными пороками развития [4]. В 30% случаев врожденные пороки сердца (ВПС) являются частью симптомокомплекса первичных иммунодефицитов [15, 23]. В Свердловской области за последние 5 лет, среди детей, погибших от тяжелого комбинированного первичного иммунодефицита, было около 30%. В настоящее время первичные иммунодефициты среди детского населения Свердловской области по данным на 2021 год, встречались с частотой 1:1998 детей. 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 послеоперационного периода после коррекции ВПС, поскольку у таких детей могут быть нарушены репаративные процессы, снижена физиологическая толерантность, сопровождающаяся аутоиммунным поражением органов и неконтролируемым системным воспалением [14, 15, 23]. Развитие тяжелых и необратимых послеоперационных осложнений у детей с ПИД приводит к существенным трудностям ведения в послеоперационном периоде, часто требуя значительных экономических затрат и финансовых вложений на лечение и жизнеобеспечение [17]. 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.

В нашей работе проанализированы фенотипические и статистические характеристики клинических случаев 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 характерных 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.

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. Данная когорта детей 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, составившими 2 исследуемую группу.

Третью группу составили 56 детей с аномалиями региона q11.2 хромосомы 22.

В группу сравнения были отобраны 80 новорожденных детей разной степени недоношенности (40 мальчиков и 40 девочек), родившихся период исследования в разные сроки гестации.

Для получения данных о влиянии гестационного возраста плода на уровень исследуемых маркеров (TREC и KREC) эта группа детей была разделена на подгруппы в зависимости от степени недоношенности [Moutquin J.M., 2003, Goldenberg R.L., 2008]: с экстремальной недоношенностью (с 22 по

28 неделю гестации, n=20), с глубокой недоношенностью (с 28 по 31 неделю гестации, n=20), с недоношенностью средней и легкой степени (с 32 по 37 неделю гестации, n=20) и доношенные новорожденные (с 38 недели гестации, n=20).

Отбор клинических случаев в исследуемые группы осуществлялся совместно с врачами отделения клинической иммунологии ГАУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница» (зав. Отделением, к.м.н. Власова Е.В.), лабораторные исследования проводились на базе лаборатории молекулярной диагностики ГАУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка» (зав. Лабораторией, к.б.н. Дерябина С.С.).

Материалом 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), результаты лабораторных и инструментальных методов исследования, протоколов аутопсий и постмортальных гистологических исследований, биологические образцы (образцы высушенной и цельной крови). Анализ документов проводился с участием клинических специалистов: врачей неонатологов, иммунологов, генетиков, патологоанатомов.

Для верификации диагноза «первичный иммунодефицит» применялись молекулярно-генетические методы исследования: метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени для количественного анализа содержания молекул TREC и KREC (тест-система БиТ-тест «АБВ-тест», Россия), метод мультиплексной лигазозависимой амплификации (наборы реагентов P250-DiGeorge Syndrome и P-245-Microdeletion Syndrome-1A «MRC-Holland», Нидерланды) и метод сравнительной геномной

гибридизации, основанной на технологии VACs-on-Beads для поиска аномалий региона 22q11.2 (набор реагентов Prenatal BoBs «PerkinElmer», Финляндия).

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 [23].

Важным представился тот факт, что с 2015 по 2021 год среди пациентов с иммунозависимой патологией в 135 случаях диагноз констатирован уже постмортально, согласно заключению экспертной комиссии Минздрава Свердловской области (рисунок 32).

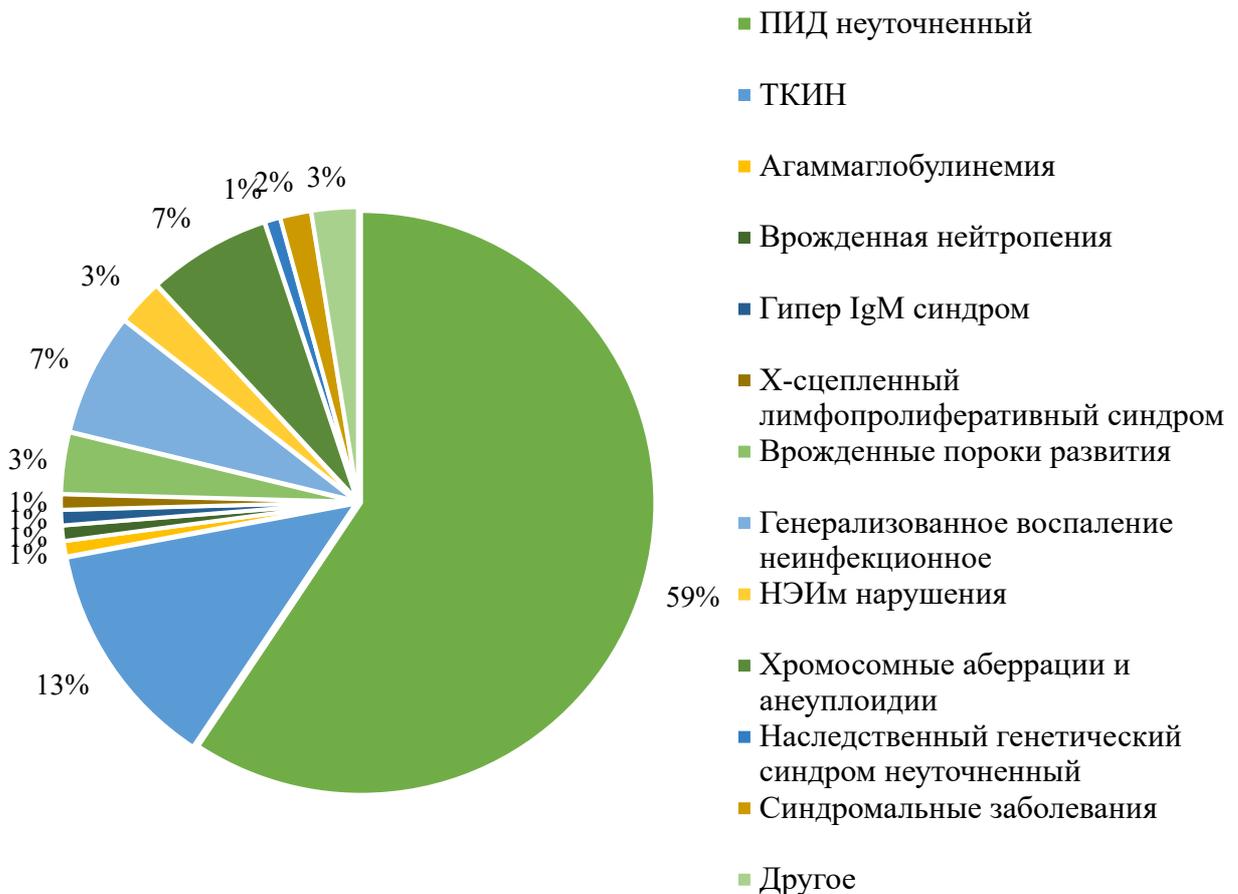


Рисунок 32 – Спектр нозологических синдромов у детей с постмортально установленным диагнозом

Проанализировав результаты заключений 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 диагностических и терапевтических инструментов для своевременного оказания патогенетически обоснованной медицинской помощи. В 3-х случаях прижизненно был диагностирован синдром делеции 22q11.2 и в 1 – синдром CHARGE.

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, дефицита TBX1, CHARGE-синдром, Швахмана-Даймонда, Кабуки 1-го и 2-го типов и варианты хромосомных болезней с тяжелым иммунодефицитом: трисомии по 18 и 21 хромосомам, моносомии по X-хромосоме.

При анализе соотношения постмортальных случаев с нозологическими проявлениями врожденных ошибок иммунитета относительно гестационного возраста пациентов было выявлено, что 61% детей были недоношенными: в 25,4% случаев это была экстремальная недоношенность, в 16,1% - глубокая недоношенность, недоношенность средней степени – 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.

Исходя из проанализированных нами данных, первичные иммунодефициты – нередкая патология, характеризующаяся разнообразными клиническими проявлениями, зачастую развивающимися отсрочено и молниеносно. Существует множество предупреждающих признаков и методов диагностики, которые позволяют заподозрить патологию и не упустить окно возможностей для продуктивной патогенетической терапии.

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 контрольной (условно здоровые дети различного гестационного возраста).

Чтобы охарактеризовать пациентов с врожденными ошибками иммунитета (ВОИ) и оценить информативность показателей TREC и KREC для пациентов с первичными иммунодефицитами, имеющими врожденные пороки сердца, необходимо иметь представление о состоянии адаптивных параметров иммунитета у здоровых индивидуумов. Для этого было проведено исследование количественного содержания TREC и KREC в крови новорожденных, не имевших проявлений ПИД и ВПС.

В нашей работе мы установили референсные интервалы для молекул TREC и KREC, определяемых в сухих пятнах крови детей различных гестационных группах, 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 по степени недоношенности обнаружено не было (таблицы 4 и 5, стр. 62-63).

При сравнительном анализе содержания TREC и KREC в образцах сухой крови у детей с первичными иммунодефицитами (n=102) и условно здоровых новорожденных в разных гестационных группах мы получили результаты, отображенные на *рисунке 33*.

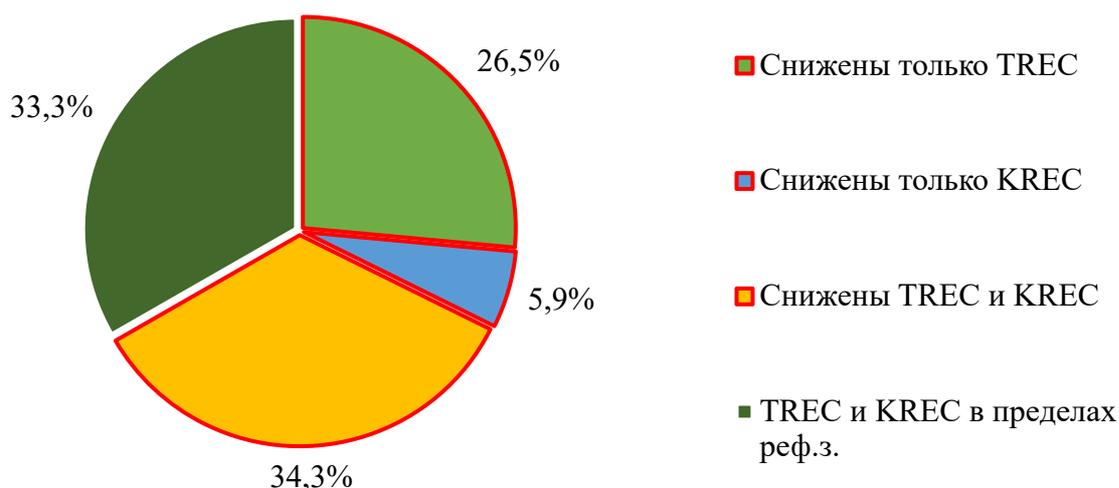


Рисунок 33 – Результаты постмортального исследования TREC и KREC в образцах сухой крови детей с первичными иммунодефицитами, взятой для неонатального скрининга

Результаты анализа показали, что в 66,7% случаев первичного 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.

При сравнительном анализе результатов в группах первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца и условно здоровых детей, мы получили результаты, отображенные в *таблице 7* (стр. 74).

Во всех исследуемых случаях первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца были достоверно снижены результаты TREC

и KREC, что является одним из объективных критериев наличия у них иммунозависимой патологии.

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 референсной группы, в 49% случаев.

Таким образом, результаты наших исследований позволяют говорить о том, что метод молекулярно-генетического исследования параметров TREC и KREC является достаточно информативным. Однако, при диагностике первичных иммунодефицитов нельзя опираться только на данный вид исследования. Диагностическая ценность данных параметров определяется наличием клинических проявлений патологии и результатами иммунологических исследований.

При ретроспективном анализе течения пренатального и постнатального периодов развития детей с первичными иммунодефицитами, имеющих врожденные пороки сердца, мы выявили ряд случаев характерных клинических проявлений (n=50) (рисунок 34).



Рисунок 34 – Клинические и фенотипические проявления первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца

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

В рамках анализа пренатального периода развития детей с первичными иммунодефицитами и врождёнными пороками сердца мы оценивали клинические особенности течения беременности их матерей, средний возраст которых составил 29,8 лет. В исследуемой группе были случаи отягощенного акушерского анамнеза: невынашивания на ранних сроках (3 случая), медикаментозные аборты (3 случая) и 2 случая внематочной беременности.

Характерной чертой матерей пациентов с первичными иммунодефицитами, осложненными врожденными пороками сердца, было наличие факторов, отягощающих настоящую беременность. Инфекционные заболевания (грибковые, вирусные, бактериальные) были отмечены в 69% случаев, при этом в 8% из них была ВИЧ-инфекция. Нарушения маточно-плацентарного кровообращения были описаны в 28%, анемия у матерей – в 30% случаев. В равной доле (8%) встречались случаи сахарного диабета, дефицита массы тела и заболеваний желудочно-кишечного тракта, проявляющихся в виде язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, гастрита, панкреатита и печеночной недостаточности. В 27% случаев у беременных наблюдались артериальная гипертензия и другие заболевания сердечно-сосудистой системы. С меньшей частотой выявлялись такие негативные факторы, как алкоголизм (5%), табакокурение (3%).

В результате анализа врожденных пороков сердца у пациентов с первичными иммунодефицитами выявлен широкий спектр форм кардиологической патологии: самыми часто встречаемыми пороками оказались дефекты межжелудочковой перегородки, которые наблюдались в 31% случаев и пороки магистральных сосудов (27%), в числе которых гипоплазия аорты, добавочная верхняя полая вена, транспозиция аорты. В 16% у пациентов с первичными иммунодефицитами наблюдались дефекты межпредсердной перегородки и в 15% – пороки клапанного аппарата. Встречались и транзиторные пороки, которые могут иметь место у недоношенных детей. К ним относятся открытое овальное окно и открытый артериальный проток, которые встретились в группе детей с первичным

иммунодефицитом и врожденными пороками сердца в 47% случаев. Однако они представлены в комбинациях с другой сердечно-сосудистой патологией, что осложняло факт наличия порока сердца у детей с первичными иммунодефицитами. Также были описаны единичные случаи дэкстракардии, врожденных кардиомиопатии и кардиомегалии.

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 летального исхода по нашим данным стала полиорганная недостаточность, выявленная в 62% случаев первичных иммунодефицитов с врожденными пороками сердца, которая являлась следствием генерализации инфекционного процесса – раннего неонатального сепсиса, что является характерным признаком первичного поражения иммунной системы. В 7% случаев неонатальный сепсис наблюдался у пациентов кардиохирургического отделения в постоперационном периоде, отмечалось наличие долго незаживающих послеоперационных ран, причиной которых могли быть врожденные ошибки иммунитета с нарушением систем репарации. С сопоставимой частотой причиной непредотвратимого летального исхода были дыхательная (29%) и сердечная (27%) недостаточности. Единичными были случаи почечной недостаточности (3%) и желудочно-кишечной патологии (5%), однако данные причины являлись следствием основного заболевания, осложнившими его течение.

Таким образом, полученные результаты продемонстрировали важность учета в диагностическом процессе ключевых признаков первичных иммунодефицитов и необходимость использования методов их выявления. Одним из весомых клинических проявлений патологии является наличие врожденных пороков сердца, которые могут быть выявлены еще на

пренатальном этапе развития человека, а также сниженные значения молекул TREC и KREC в образцах сухой крови, взятых для массового скрининга и результаты УЗИ-сканирования тимуса в раннем неонатальном периоде. Кроме того, обращают на себя внимание имеющиеся факты осложнений беременности, в частности, нарушения маточно-плацентарного кровообращения и анемии матери во время беременности.

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 ребенок 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 случай на 9895 детей, что оказалось ниже, чем общепринятые представления. По данным Куо С.У. и др. (2018) синдром ДиДжорджи встречался 1 на 4000 – 5000 детей в популяции [120]. Это свидетельствует о том, что необходимо более пристальное внимание к пациентам с ключевыми проявлениями данной нозологической формы, а также большая настороженность среди специалистов педиатрического, неврологического и кардиологического профиля.

Поэтому актуальность проведения комплексной характеристики пациентов с подтвержденной молекулярно-генетическими методами делецией 22q11.2 не вызывала сомнения.

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 (рисунки 35).

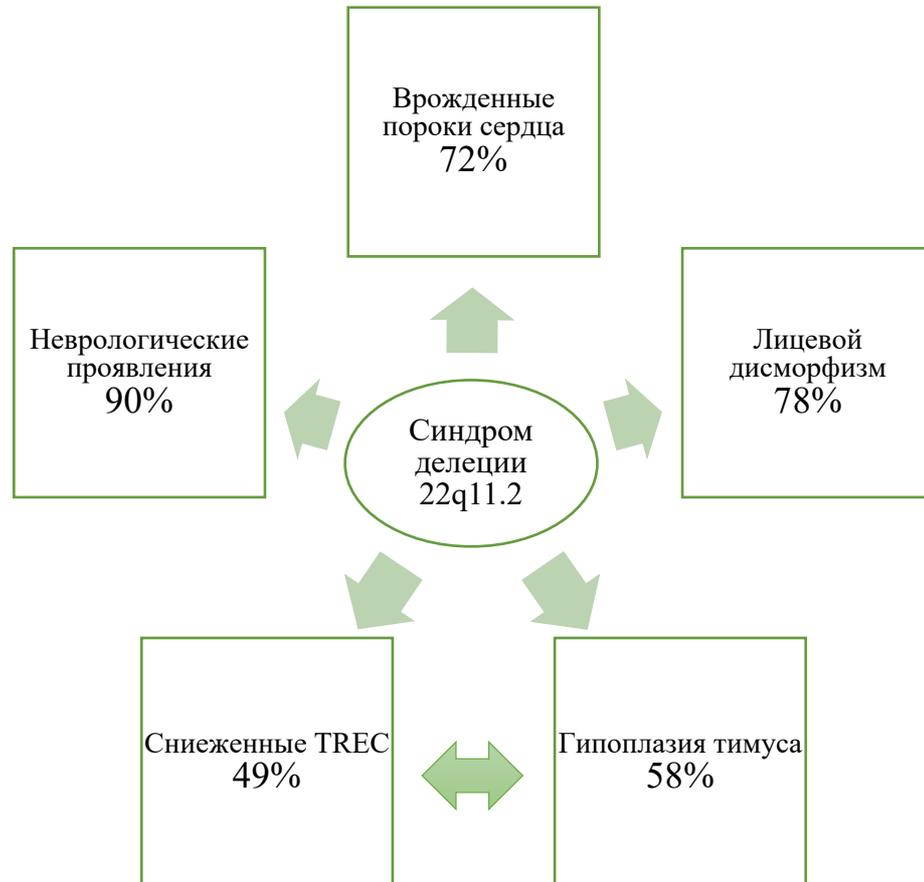


Рисунок 35 – Частота выявления фенотипических признаков синдрома делеции 22q11.2

Классическим представлением синдрома ДиДжорджи является симптомокомплекс CATCH-22 (Cardiac defects (врожденные пороки сердца), Abnormal facies (лицевой дисморфизм), Thymic hypoplasia (гипоплазия тимуса), Cleft palate (расщелина верхнего неба), Hypocalcemia (гипокальциемия), 22q11 deletion (делеция 22q11)), однако, как показали результаты нашей работы, патология тимуса имела место лишь 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. Более чем у половины пациентов описывалась асимметрия лица (60%) и аномалии строения слухового аппарата и расположения ушных раковин (61%). Также в 50% детей с синдромом делеции 22q11.2 наблюдался носовой дисморфизм и в 27% аномалии глаз, однако последние нельзя считать патогномичными признаками, так как они могут широко варьировать с учетом расовой принадлежности пациентов.

У четверти пациентов были обнаружены аномалии строения верхних и нижних конечностей, среди которых: гипермобильность суставов, ассиметрия, клинодактилия, дополнительные ногтевые фаланги, шейный птериgium, ассиметричный рост пальцев.

Среди неврологических отклонений у 44% пациентов с синдромом ДиДжорджи отмечалась задержка психоречевого развития, в 17% случаев – задержка психомоторного развития, и с равной частотой (11%) регистрировались задержка физического развития, эпилептические приступы и миатонический синдром. Одним из частых клинических проявлений является аспирационная пневмония, связанная с дисфагическими явлениями и нарушениями иммунной системы.

Таким образом, проведенный анализ свидетельствует о том, что аномалии региона 22q11.2 характеризуется проявлением широкого спектра синдромальных стигм, множественными микроаномалиями развития, врожденными пороками сердца, расстройствами иммунной системы и психоневрологическими нарушениями. Знание спектра фенотипических проявлений, встречаемых при данных нозологических формах, позволит

использовать оптимальный метод лабораторного подтверждения диагноза и сориентировать врача в выборе патогенетически обоснованной стратегии лечения пациента.

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, что клинически реализуется тяжелыми атипичными инфекционными процессами, повышенной склонностью к опухолеобразованию, аутоиммунным и аутовоспалительным заболеваниям. Врожденные пороки сердца – часть симптомокомплекса, сопровождающая первичные иммунодефициты у трети пациентов с ВОИ. Врожденные ошибки иммунитета – это междисциплинарная проблема, охватывающая практически все разделы современной медицины, требующая своевременного вмешательства целого ряда специалистов, включая иммунологов, неонатологов, акушеров-гинекологов, кардиологов, гастроэнтерологов, генетиков и педиатров, тогда как деятельность в рамках лишь одной дисциплины – путь к неизбежным ошибкам.

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 раннего возраста 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:

- скрининг на молекулярно-генетические маркеры группы иммунодефицитов (TREC и KREC);
- развернутый общий анализ крови;
- исследование тимус–опосредованных изменений в организме определение размеров тимуса и выявление структурных изменений в нем, определяемых методом ультразвукового сканирования;
- наличие первичных и вторичных изменений параметров иммунитета, включая анализ популяционных и субпопуляционных характеристик лейкоцитов, концентрацию сывороточных иммуноглобулинов, фенотипические признаки первичных иммунодефицитов, имеющие инфекционные и неинфекционные признаки;
- при необходимости пациентам проводится молекулярно–генетическое обследование различными методами.

При наличии клинических показаний также необходимо проведение других лабораторных исследований, спектр которых определяется в зависимости от проявлений болезни, в т.ч., биохимический анализ крови, бактериологические и вирусологические исследования, функционально–диагностические и морфологические исследования органов иммунной системы.

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

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, недостаточности 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. Среди летальных случаев дети с первичными иммунодефицитами и врожденными пороками сердца в 71,4% были недоношенными; 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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. Черемохин // Российский иммунологический журнал. 2021. Т. 24, № 1. С. 7-68.
2. Власова, Е.В. Нарушения противoinфекционной защиты у детей на ранних этапах онтогенеза: дис. канд. мед. наук / Е.В. Власова. – Челябинск, 2005. – 156 с.
3. Власова, Е.В. Регистр пациентов Свердловской области с первичными иммунодефицитами / Е.В. Власова; Свердлов. обл. детская клин. больница (дата обращения 01.06.2022 г.). Екатеринбург, 2022.
4. Здравоохранение в России. 2021: стат.сб. / Росстат. – М., 2021. – 171 с.
5. Клинико-генетическая характеристика синдромов делеции 22q11.2 / Ю.О. Козлова, В.В. Забненкова, Н.В. Шилова, и др. // Генетика. 2014. Т. 50, № 5. С. 602-610.
6. Клиническая иммунология: монография / В.А. Козлов, А.А. Савченко, И.В. Кудрявцев, и др. Красноярск: Поликор, 2020. 386 с.
7. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2-х т. / под ред. В.В. Долгова, В.В.Меньшикова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. Т.1. 928 с.
8. Клинические рекомендации по ведению детей с врожденными пороками сердца / под ред. Л.А. Бокерия. М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева; 2014. 342 с.
9. Медицинский портал: <http://naepid-reg.ru/pub001.pdf> (дата обращения: 18.02.2020).
10. Медицинский портал: <https://www.immunologia.org/images/site/grupos/inmunodeficiencias/1443.pdf> (дата обращения: 11.04.2021).

11. Молекулярно-генетическая диагностика первичных иммунодефицитов в Свердловской области / С.С. Дерябина, О.В. Лагутина, И.А. Тузанкина, Е.В. Власова, М.А. Болков // Медицинская иммунология. 2020; 22(6): 1163-1172.

12. Николаидес, К. Ультразвуковое исследование в 11-13,6 недель беременности / К. Николаидес. Санкт-Петербург: Петрополис, 2007. 142 с.

13. Отчет главного внештатного кардиолога Свердловской области / С.В. Шалаев / Мин-во здравоохранения Свердл. обл. Екатеринбург, 2020. 12 с.

14. Первичные иммунодефициты в раннем возрасте: монография / И.А. Тузанкина, С.С. Дерябина, М.А. Болков, Е.А. Басс, В.Н. Шершневу; УрО РАН. Москва, 2018. 176 с.

15. Первичные иммунодефициты (врожденные ошибки иммунитета) в раннем возрасте: монография / И.А. Тузанкина, С.С. Дерябина, М.А. Болков, и др. Ташкент: Adast-poligraf, 2022. 232 с.

16. Первичные иммунодефициты – реалии XXI века. / А.Ю. Щербина // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2016;15(1):8-9. doi:10.24287/1726-1708-2016-15-1-8-9.

17. Самаль, Т.Н. Первичные иммунодефициты у детей: учебно-методическое пособие / Т.Н. Самаль. Минск: БГМУ, 2012. 39 с.

18. Саперова, Е.В. Врожденные пороки сердца у детей: распространенность, факторы риска, смертность / Е.В. Саперова, И.В. Вахлова // Вопросы современной педиатрии. 2017. Т.16, № 2. С. 126-133. doi:10.15690/vsp.v16i2.1713.

19. Снегирева, И.И. Изучение роли первичных иммунодефицитных состояний у детей с БЦЖ-оститами / И.И. Снегирева, К.Э. Затолочина, Н.А. Озерецковский // Биопрепараты. 2015. № 1. С. 51-55.

20. Совершенствование организации лечения детей с критическими врожденными пороками сердца в Свердловской области / Э.М. Идов, А.А. Пнджоян, Е.Б. Николаева, и др. // Вестник уральской медицинской академической науки. 2016. № 1. С. 11-13.

21. Спектр редких хромосомных аномалий, выявленных пренатально у плодов с увеличенным воротниковым пространством / Т.В. Золотухина, Е.В. Юдина, Н.В. Шилова, и др. // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. Т. 62, № 2. С. 88-92. doi: 10.17816/JOWD62288-92.

22. Тузанкина, И.А. К вопросу диагностики иммунопатологии / И.А. Тузанкина // Медицинская иммунология. 2010. Т. 12, № 6. С. 485-496.

23. Тузанкина, И.А. Отчет главного внештатного детского иммунолога Свердловской области за 2021 г. / И.А. Тузанкина; Мин-во здравоохранения Свердл. обл. Екатеринбург, 2021. 12 с.

24. Шаргаева, Н.В. Пренатальная диагностика в акушерской практике / Н.В. Шаргаева // Охрана материнства и детства. 2005. № 1 (6). С. 96-100.

25. Щербина, А.Ю. Маски первичных иммунодефицитных состояний: проблемы диагностики и терапии / А.Ю. Щербина // Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2016. № 3 (1). С. 52-58. doi:10.17650/2311-1267-2016-3-1-52-58.

26. A French collaborative survey of 272 fetuses with 22q11.2 deletion: ultrasound findings, fetal autopsies and pregnancy outcomes / J. Besseau-Ayasse, C. Violle-Poirsier, A. Bazin, et al. // Prenat Diagn. 2014. May. 34 (5): 424-30. doi: 10.1002/pd.4321. Epub 2014 Feb 12. PMID: 24395195.

27. Abstracts of the 14th World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (31 Aug. - 4 Sept. 2004, Stockholm, Sweden. Ultrasound Obstet Gynecol. 200. Aug; 24 (3): 217-381. doi: 10.1002/uog.1126. PMID: 15329970.

28. Accurate clinical detection of exon copy number variants in a targeted NGS panel using DECoN / A. Fowler, S. Mahamdallie, E. Ruark, et al. // Wellcome Open Res. 2016. Nov. 25; 1: 20. doi: 10.12688/wellcomeopenres.10069.1. PMID: 28459104; PMCID: PMC5409526.

29. Age-Related Parkinsonian Signs in Microdeletion 22q11.2 / E. Boot, T.Q. Mentzel, L.D. Palmer, et al. // Mov Disord. 2020. Jul; 35 (7): 1239-1245. doi: 10.1002/mds.28080. Epub 2020 May 9. PMID: 32386091; PMCID: PMC7497092.

30. A New IL-2RG Gene Mutation in an X-linked SCID Identified through TREC/KREC Screening: a Case Report / M. Nourizadeh, S. Borte, M.R. Fazlollahi, et al. // *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2015. Aug. 14 (4): 457-61. PMID: 26547715.
31. An integrated flow cytometry-based platform for isolation and molecular characterization of circulating tumor single cells and clusters / N. Bhagwat, K. Dulmage, C.H. Pletcher, et al. // *Sci Rep.* 2018. 8: 5035. doi: 10.1038/s41598-018-23217-5.
32. A novel immunodeficiency disorder characterized by genetic amplification of interleukin 25 / M.R. Green, E. Camilleri, M.K. Gandhi, et al. // *Genes Immun.* 2011. Dec.; 12 (8): 663-6. doi: 10.1038/gene.2011.50. Epub 2011 Jul 21. PMID: 21776014.
33. Analysis of cardiovascular phenotype and genotype-phenotype correlation in individuals with a JAG1 mutation and/or Alagille syndrome / D.B. McElhinney, I.D. Krantz, L. Bason, et al. // *Circulation.* 2002. Nov. 12. 106 (20): 2567-74. doi: 10.1161/01.cir.0000037221.45902.69. PMID: 12427653.
34. Aortic dilation, dissection, and rupture in patients with Turner syndrome / A.E. Lin, B.M. Lippe, M.E. Geffner, et al. // *J Pediatr.* 1986. Nov. 109 (5): 820-6. doi: 10.1016/s0022-3476(86)80700-4. PMID: 3772661.
35. Ataxia telangiectasia: a review / C. Rothblum-Oviatt, J. Wright, M.A. Lefton-Greif, et al. // *Orphanet J Rare Dis.* 2016. Nov. 25. 11 (1): 159. doi: 10.1186/s13023-016-0543-7. PMID: 27884168; PMCID: PMC5123280.
36. Atherosclerotic Cardiovascular Events in Patients Infected With Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus / B.K. Tan, M. Chalouni, D.S. Ceron, et al.; ANRS CO13 HEPAVIH study group // *Clin Infect Dis.* 2021. May 4. 72 (9): e215-e223. doi: 10.1093/cid/ciaa1014. PMID: 32686834.
37. BACs-on-Beads™: a new technology for rapid detection of aneuploidies and microdeletions in prenatal diagnosis / F. Vialard, G. Simoni, A. Aboura, et al. // *Prenatal Prenat Diagn.* 2011. May. 31 (5): 500-8. doi: 10.1002/pd.2727. Epub 2011 Mar 14. PMID: 21404304.

38. Banka, S. A clinical and molecular review of ubiquitous glucose-6-phosphatase deficiency caused by G6PC3 mutations / S. Banka, W.G. Newman // *Orphanet J Rare Dis.* 2013. Jun 13; 8:84. doi: 10.1186/1750-1172-8-84. PMID: 23758768; PMCID: PMC3718741.

39. Benacerraf, B.R. Sonographic detection of fetuses with trisomies 13 and 18: accuracy and limitations / B.R. Benacerraf, W.A. Miller, F.D. Frigoletto Jr. // *Am J Obstet Gynecol.* 1988. Feb; 158 (2): 404-9. doi: 10.1016/0002-9378(88)90165-2. PMID: 3277433.

40. Berry, A.C. Mosaicism and the trisomy 8 syndrome / A.C. Berry, D.E. Mutton, D.G. Lewis // *Clin Genet.* 1978 Aug.; 14 (2): 105-14. doi: 10.1111/j.1399-0004.1978.tb02114.x. PMID: 688687.

41. Blazina, Š. 11q terminal deletion and combined immunodeficiency (Jacobsen syndrome): Case report and literature review on immunodeficiency in Jacobsen syndrome / Š. Blazina, A. Ihan, L. Lovrečić, T. Hovnik // *Am J Med Genet A.* 2016. Dec.; 170 (12): 3237-3240. doi: 10.1002/ajmg.a.37859. Epub 2016 Sep 8. PMID: 27605496.

42. Burden of copy number variation in common variable immunodeficiency / M. Keller, J. Glessner, E. Resnick, et al. // *Clin Exp Immunol.* 2014. Jul. 177 (1): 269-71. doi: 10.1111/cei.12255. PMID: 24329717; PMCID: PMC4089176.

43. Campbell, S. Use of ultrasound in the prenatal diagnosis of congenital disorders / S. Campbell, D. Griffin, D. Little, L. Allan // *Methods Cell Biol.* 1982; 26: 181-227. doi: 10.1016/s0091-679x(08)61366-7. PMID: 6752651.

44. Candidate modifier genes for immune function in 22q11.2 deletion syndrome / C.T. Pinnaro, T. Henry, H.J. Major, et al. // *Mol Genet Genomic Med.* 2020. Jan. 8 (1): e1057. doi: 10.1002/mgg3.1057. Epub 2019 Dec 12. PMID: 31830774; PMCID: PMC6978229.

45. Cardiac defects in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation / A. Galindo, C. Comas, J.M. Martínez, et

al. // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003. Mar.; 13 (3): 163-70. doi: 10.1080/jmf.13.3.163.170. PMID: 12820838.

46. Cardiac malformations in trisomy-18: a study of 41 postmortem cases / S. Van Praagh, T. Truman, A. Firpo, et al. // *J Am Coll Cardiol.* 1989. Jun. 13 (7): 1586-97. doi: 10.1016/0735-1097(89)90353-7. PMID: 2723271.

47. Cardiac-specific Mst1 deficiency inhibits ROS-mediated JNK signalling to alleviate Ang II-induced cardiomyocyte apoptosis / Z. Cheng, M. Zhang, J. Hu, et al. // *J Cell Mol Med.* 2019. Jan. 23 (1): 543-555. doi: 10.1111/jcmm.13958. Epub 2018 Oct 19. PMID: 30338935; PMCID: PMC6307828.

48. Cardiomyopathies and congenital heart diseases in Shwachman-Diamond syndrome: a national survey / Q. Hauet, B. Beaupain, M. Micheau, et al. // *Int J Cardiol.* 2013. Aug. 10; 167 (3): 1048-50. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.10.084. Epub 2012 Nov 17. PMID: 23164595.

49. Cardiovascular abnormalities in primary immunodeficiency diseases / A. Human, L. Murguia-Favela, L. Benson, et al. // *LymphoSign Journal.* 2014. 2 (3): 107-134. doi:10.14785/lpsn-2014-0013.

50. Cardiovascular findings, and clinical course, in patients with Williams syndrome / E. Bruno, N. Rossi, O. Thüer, et al. // *Cardiol Young.* 2003. Dec.; 13(6):532-6. PMID: 14982294.

51. Cardiovascular manifestations in 75 patients with Williams syndrome / M. Eronen, M. Peippo, A. Hiippala, et al. // *J Med Genet.* 2002. Aug.; 39 (8): 554-8. doi: 10.1136/jmg.39.8.554. PMID: 12161592; PMCID: PMC1735199.

52. Carlson, L.M. Prenatal Diagnosis: Screening and Diagnostic Tools / L.M. Carlson, N.L. Vora // *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2017. Jun. 44 (2): 245-256. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.004. PMID: 28499534; PMCID: PMC5548328.

53. Carvalho, J.S. Fetal heart scanning in the first trimester / J.S. Carvalho // *Prenat Diagn.* 2004. Dec. 30; 24 (13): 1060-7. doi: 10.1002/pd.1063. PMID: 15614834.

54. CEREDIH: The French PID study group. The French national registry of primary immunodeficiency diseases // *Clin Immunol.* 2010. May; 135 (2): 264-72. doi: 10.1016/j.clim.2010.02.021. PMID: 20399414.

55. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection / D.C. Douek, R.D. McFarland, P.H. Keiser, et al. // *Nature.* 1998. Dec. 17; 396 (6712): 690-5. doi: 10.1038/25374. PMID: 9872319.

56. Chaoui, R. Fetal thymus and the 22q11.2 deletion / R. Chaoui, H. Körner, C. Bommer, K.D. Kalache // *Prenat Diagn.* 2002. Sep. 22 (9): 839-40. doi: 10.1002/pd.422. PMID: 12224085.

57. Chinn I.K., Bostwick B.L. The role of genomic approaches in diagnosis and management of primary immunodeficiency / I.K. Chinn, B.L. Bostwick // *Curr Opin Pediatr.* 2018. Dec. 30 (6): 791-797. doi: 10.1097/MOP.0000000000000695. PMID: 30234646.

58. Chromosomal abnormalities / M.E.M., Pierpont, J.H. Moller, et al. // *The Genetics of Cardiovascular Disease.* Boston, Mass: Nijhoff, 1987. 13–24.

59. Clinical impact of first and early second trimester fetal echocardiography on high risk pregnancies / J.S. Carvalho, G. Moscoso, A. Tekay, et al. // *Heart.* 2004. Aug.; 90 (8): 921-6. doi: 10.1136/hrt.2003.015065. PMID: 15253970; PMCID: PMC1768345.

60. Clinical Next-Generation Sequencing Pipeline Outperforms a Combined Approach Using Sanger Sequencing and Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification in Targeted Gene Panel Analysis / L.C. Schenkel, J. Kerkhof, A. Stuart, et al. // *J Mol Diagn.* 2016. Sep. 18 (5): 657-667. doi: 10.1016/j.jmoldx.2016.04.002. Epub 2016 Jul 2. PMID: 27376475.

61. Clinical Validation of Copy Number Variant Detection from Targeted Next-Generation Sequencing Panels / J. Kerkhof, L.C. Schenkel, J. Reilly, et al. // *J Mol Diagn.* 2017. Nov. 19 (6): 905-920. doi: 10.1016/j.jmoldx.2017.07.004. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28818680.

62. Comparison of chromosome analysis and chromosomal microarray analysis: what is the value of chromosome analysis in today's genomic array era? /

W. Bi, C. Borgan, A.N. Pursley, et al. // *Genet Med*. 2013. Jun. 15 (6): 450-7. doi: 10.1038/gim.2012.152. Epub 2012 Dec 13. PMID: 23238528.

63. Congenital heart anomalies in the trisomy 18 syndrome, with reference to congenital polyvalvular disease / R. Matsuoka, K. Misugi, A. Goto, et al. // *Am J Med Genet*. 1983. Apr. 14 (4): 657-68. doi: 10.1002/ajmg.1320140409. PMID: 6846400.

64. Congenital heart defects in molecularly proven Kabuki syndrome patients / M.C. Digilio, M. Gnazzo, F. Lepri, et al. // *Am J Med Genet A*. 2017. Nov. 173 (11): 2912-2922. doi: 10.1002/ajmg.a.38417. Epub 2017 Sep 8. PMID: 28884922.

65. Congenital Heart Disease: An Immunological Perspective / K.L. Singampalli, E. Jui, K. Shani, et al. // *Front Cardiovasc Med*. 2021. Aug. 9. 8: 701375. doi: 10.3389/fcvm.2021.701375. PMID: 34434978; PMCID: PMC8380780.

66. Congenital heart disease: prevalence at livebirth. The Baltimore-Washington Infant Study / C. Ferencz, J.D. Rubin, R.J. McCarter, et al. // *Am J Epidemiol*. 1985. Jan.; 121 (1): 31-6. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a113979. PMID: 3964990.

67. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies / D.T. Miller, M.P. Adam, S. Aradhya, et al // *Am J Hum Genet*. 2010. May 14. 86 (5): 749-64. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006. PMID: 20466091; PMCID: PMC2869000.

68. Copy number variation of the gene NCF1 is associated with rheumatoid arthritis / L.M. Olsson, A. Nerstedt, A.K. Lindqvist, et al. // *Antioxid Redox Signal*. 2012. Jan. 1. 16 (1): 71-8. doi: 10.1089/ars.2011.4013. Epub 2011 Aug 23. PMID: 21728841.

69. Corsten-Janssen, N. Clinical and molecular effects of CHD7 in the heart / N. Corsten-Janssen, J. Scambler P. // *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2017. Dec.; 175 (4): 487-495. doi: 10.1002/ajmg.c.31590. Epub 2017 Oct 31. PMID: 29088513.

70. Cuneo, B.F. Trends in prenatal diagnosis of critical cardiac defects in an integrated obstetric and pediatric cardiac imaging center / B.F. Cuneo, L.F. Curran, N. Davis, H. Elrad // *J Perinatol.* 2004. Nov. 24 (11): 674-8. doi: 10.1038/sj.jp.7211168. PMID: 15284832.

71. Deficiency of chromosome 8p21.1-8pter: case report and review of the literature / W.B. Dobyns, G.W. Dewald, R.O. Carlson, et al. // *Am J Med Genet.* 1985. Sep.; 22 (1): 125-34. doi: 10.1002/ajmg.1320220114. PMID: 3901750.

72. Del Rey, A. Immune-Neuro-Endocrine Reflexes, Circuits, and Networks: Physiologic and Evolutionary Implications / A. Del Rey, H.O. Besedovsky // *Front Horm Res.* 2017. 48: 1-18. doi: 10.1159/000452902. Epub 2017 Feb 28. PMID: 28245448.

73. Deletion of the short arm of chromosome 10 (10p13): report of a patient and review / M. Shapira, Z. Borochowitz, H. Bar-El, et al. // *Am J Med Genet.* 1994. Aug. 1. 52 (1): 34-8. doi: 10.1002/ajmg.1320520107. PMID: 7977458.

74. Deletion 8p syndrome / M.C. Digilio, B. Marino, P. Guccione, et al. // *Am J Med Genet.* 1998. Feb. 17; 75 (5): 534-6. PMID: 9489800.

75. Delineation of the common critical region in Williams syndrome and clinical correlation of growth, heart defects, ethnicity, and parental origin / Y.Q. Wu, V.R. Sutton, E. Nickerson, et al. // *Am J Med Genet.* 1998. Jun 16. 78 (1): 82-9. doi: 10.1002/(sici)1096-8628(19980616)78:1<82::aid-ajmg17>3.0.co;2-k. PMID: 9637430.

76. Delmonte, O.M. Inborn Errors of Immunity With Immune Dysregulation: From Bench to Bedside / O.M. Delmonte, R. Castagnoli, E. Calzoni, L.D. Notarangelo // *Front Pediatr.* 2019. Aug. 27. 7: 353. doi: 10.3389/fped.2019.00353. PMID: 31508401; PMCID: PMC6718615.

77. Devonshire, A.L. Approach to primary immunodeficiency / A.L. Devonshire, M. Makhija // *Allergy Asthma Proc.* 2019. Nov. 1; 40 (6): 465-469. doi: 10.2500/aap.2019.40.4273. PMID: 31690396.

78. Diagnostic Approach to the Patients with Suspected Primary Immunodeficiency / M. Tavakol, M. Jamee, G. Azizi, et al. // *Endocr Metab Immune*

Disord Drug Targets. 2020. 20 (2): 157-171. doi: 10.2174/1871530319666190828125316. PMID: 31456526.

79. Diagnostic utility of telomere length testing in a hospital-based setting / J.K. Alder, V.S. Hanumanthu, M.A. Strong, et al. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018. Mar 6; 115 (10): E2358-E2365. doi: 10.1073/pnas.1720427115. Epub 2018 Feb 20. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Apr 23;: PMID: 29463756; PMCID: PMC5877993.

80. DiGeorge anomaly associated with 10p deletion / G. Monaco, C. Pignata, E. Rossi, et al. // *Am J Med Genet*. 1991. May 1. 39 (2): 215-6. doi: 10.1002/ajmg.1320390220. PMID: 2063928.

81. Differential methylation of imprinting genes and MHC locus in 22q11.2 deletion syndrome-related schizophrenia spectrum disorders / M. Carmel, E. Michaelovsky, R. Weinberger, et al. // *World J Biol Psychiatry*. 2021. Jan.; 22 (1): 46-57. doi: 10.1080/15622975.2020.1747113. Epub 2020 Apr 14. PMID: 32212948.

82. Donnenfeld, A.E. Prospective study of 22q11 deletion analysis in fetuses with excess nuchal translucency / A.E. Donnenfeld, D. Cuttillo, J. Horwitz, J. Knops // *Am J Obstet Gynecol*. 2006. Feb.; 194 (2): 508-11. doi: 10.1016/j.ajog.2005.07.056. PMID: 16458654.

83. Dorn-Beineke, A. Quality control and validation in clinical flow cytometry / A. Dorn-Beineke, U. Sack // *Lab J Lab Med*. 2016. 40: 65–79. doi: 10.1515/labmed-2016-0016.

84. Early screening for fetal cardiac anomalies by transvaginal echocardiography in an unselected population: the role of operator experience / M.A. Rustico, A. Benettoni, G. D'Ottavio, et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000. Dec. 16 (7): 614-9. doi: 10.1046/j.1469-0705.2000.00291.x. PMID: 11169366.

85. Erman, B. Genetic Screening of the Patients with Primary Immunodeficiency by Whole-Exome Sequencing / B. Erman, F. Çipe // *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2020. Mar. 33 (1): 19-24. doi: 10.1089/ped.2019.1097. Epub 2020 Feb 25. PMID: 33406023; PMCID: PMC7875111.

86. Erman, B. Invasive *Saprochaete capitata* Infection in a Patient with Autosomal Recessive CARD9 Deficiency and a Review of the Literature/ B. Erman, S. Firtina, B.A. Aksoy, et al. // *J Clin Immunol*. 2020;40(3):466-474. doi:10.1007/s10875-020-00759-w.

87. Evaluating the Calling Performance of a Rare Disease NGS Panel for Single Nucleotide and Copy Number Variants / P. Cacheiro, A. Ordóñez-Ugalde, B. Quintáns, et al. // *Mol Diagn Ther*. 2017. Jun.; 21 (3): 303-313. doi: 10.1007/s40291-017-0268-x. PMID: 28290094.

88. Evaluation de la thymopoïèse: applications cliniques [Evaluation of thymopoiesis: clinical applications] / E. Castermans, G. Morrhaye, S. Marchand, et al. // *Rev Med Liege*. 2007. Dec.; 62 (12):725-9. French. PMID: 18286949.

89. Exome and genome sequencing for inborn errors of immunity / I. Meyts, B. Bosch, A. Bolze, et al. // *J Allergy Clin Immunol*. 2016. Oct. 138 (4): 957-969. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.003. PMID: 27720020; PMCID: PMC5074686.

90. Felker, R.E. Ultrasound of the fetal thymus / R.E. Felker, M.S. Cartier, D.S. Emerson, D.L. Brown // *J Ultrasound Med*. 1989. Dec. 8 (12): 669-73. doi:10.7863/jum.1989.8.12.669. PMID: 2685344.

91. Fetal cardiac abnormalities identified prior to 14 weeks' gestation / I.C. Huggon, T. Ghi, A.C. Cook, et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002. Jul.; 20 (1): 22-9. doi: 10.1046/j.1469-0705.2002.00733.x. PMID: 12100413.

92. Fetal cardiac defects and increased nuchal translucency thickness: a prospective study / F.M. McAuliffe, L.K. Hornberger, S. Winsor, et al. // *Am J Obstet Gynecol*. 2004. Oct. 191 (4): 1486-90. doi: 10.1016/j.ajog.2004.05.049. PMID: 15507988.

93. Forsyth, J.K. Genetics of Childhood-onset Schizophrenia 2019 Update / J.K. Forsyth, R.F. Asarnow // *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2020. Jan.; 29 (1): 157-170. doi: 10.1016/j.chc.2019.08.007. Epub 2019 Oct 17. PMID: 31708045; PMCID: PMC6954004.

94. First-trimester diagnosis of fetal congenital heart disease by transvaginal ultrasonography / R. Achiron, Z. Rotstein, S. Lipitz, et al. // *Obstet Gynecol.* 1994. Jul; 84(1): 69-72. PMID: 8008327.

95. Flow Cytometric Analyses of Lymphocyte Markers in Immune Oncology: A Comprehensive Guidance for Validation Practice According to Laws and Standards / C. Lambert, G. Yanikkaya Demirel, T. Keller, et al. // *Front Immunol.* 2020. 11: 2169. Published 2020 Sep 17. doi:10.3389/fimmu.2020.02169.

96. From Wet-Lab to Variations: Concordance and Speed of Bioinformatics Pipelines for Whole Genome and Whole Exome Sequencing / S. Laurie, M. Fernandez-Callejo, S. Marco-Sola, al. // *Hum Mutat.* 2016. Dec. 37 (12) :1263-1271. doi: 10.1002/humu.23114. Epub 2016 Sep 26. PMID: 27604516; PMCID: PMC5129537.

97. Gamma, A. The role of genetic information in personalized medicine / A. Gamma // *Perspect Biol Med.* 2013.; 56 (4): 485-512. doi: 10.1353/pbm.2013.0040. PMID: 24769744.

98. Genetic and mechanistic diversity in pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis / I.K. Chinn, O.S. Eckstein, E.C. Peckham-Gregory, et al. // *Blood.* 2018. Jul. 5; 132 (1): 89-100. doi: 10.1182/blood-2017-11-814244. Epub 2018 Apr 9. PMID: 29632024; PMCID: PMC6034641.

99. Genome-wide association identifies diverse causes of common variable immunodeficiency / J.S. Orange, J.T. Glessner, E. Resnick, et al. // *J Allergy Clin Immunol.* 2011. Jun. 127 (6): 1360-7.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2011.02.039. Epub 2011 Apr 17. PMID: 21497890; PMCID: PMC3646656.

100. Goldhaber, S.Z. High frequency of mitral valve prolapse and aortic regurgitation among asymptomatic adults with Down's syndrome / S.Z. Goldhaber, W.D. Brown, M.G. Sutton // *JAMA.* 1987. Oct. 2; 258 (13): 1793-5. PMID: 2957521.

101. Gu, W. CNV and nervous system diseases-what's new? / W. Gu, J.R. Lupski // *Cytogenet Genome Res.* 2008. 123 (1-4): 54-64. doi: 10.1159/000184692. Epub 2009 Mar 11. PMID: 19287139; PMCID: PMC2920183.

102. Gupta, A. Primary Immunodeficiency Disorders: Where Do We Stand? / A. Gupta // *Indian J Pediatr.* 2019. Oct.; 86 (10): 873-874. doi: 10.1007/s12098-019-03031-1. Epub 2019 Jul 24. PMID: 31342413.
103. Hancock, M.P. Congenital rubella syndrome with immunoglobulin disorder / M.P. Hancock, C.C. Huntley, J.L. Sever // *J Pediatr.* 1968. May; 72 (5): 636-45. doi: 10.1016/s0022-3476(68)80006-x. PMID: 4172202.
104. Helios deficiency has minimal impact on T cell development and function / Q. Cai, A. Dierich, M. Oulad-Abdelghani, et al. // *J Immunol.* 2009. Aug. 15; 183 (4): 2303-11. doi: 10.4049/jimmunol.0901407. Epub 2009 Jul 20. PMID: 19620299.
105. Nuchal translucency and the risk of congenital heart disease / L.L Simpson, F.D. Malone, D.W. Bianchi, et al. // *Obstet Gynecol.* 2007 Feb;109(2 Pt 1):376-83. doi: 10.1097/01.AOG.0000250473.99575.72. PMID: 17267839.
106. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification / A. Bousfiha, L. Jeddane, C. Picard, et al. // *J Clin Immunol.* 2020. Jan. 40 (1): 66-81. doi: 10.1007/s10875-020-00758-x. Epub 2020 Feb. 11. PMID: 32048120; PMCID: PMC7082388.
107. Hyett, J. First trimester screening for fetal abnormalities / J. Hyett, B. Thilaganathan // *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1999. Dec.; 11 (6): 563-9. doi: 10.1097/00001703-199912000-00005. PMID: 10674833.
108. Impaired cellular immunity to rubella virus in congenital rubella / D.A. Fuccillo, R.W. Steele, S.A. Hensen, et al. // *Infect Immun.* 1974. Jan.; 9 (1): 81-4. doi: 10.1128/iai.9.1.81-84.1974. PMID: 4808855; PMCID: PMC414768.
109. Increased nuchal translucency thickness and normal karyotype: time for parental reassurance / C.M. Bilardo, M.A. Müller, E. Pajkrt, et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007. Jul.; 30 (1): 11-8. doi: 10.1002/uog.4044. PMID: 17559183.
110. Insertional translocation detected using FISH confirmation of array-comparative genomic hybridization (aCGH) results / S.H. Kang, C. Shaw, Z. Ou, et al. // *Am J Med Genet A.* 2010. May. 152A (5): 1111-26. doi: 10.1002/ajmg.a.33278. PMID: 20340098; PMCID: PMC3726029.

111. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity / C. Picard, H. Bobby Gaspar, W. Al-Herz, et al. // *J Clin Immunol*. 2018. Jan. 38 (1): 96-128. doi: 10.1007/s10875-017-0464-9. Epub 2017 Dec 11. PMID: 29226302; PMCID: PMC5742601.

112. Jelin, A.C. Prenatal Genetic Testing Options / A.C. Jelin, K.G. Sagaser, L. Wilkins-Haug // *Pediatr Clin North Am*. 2019. Apr.; 66 (2): 281-293. doi: 10.1016/j.pcl.2018.12.016. PMID: 30819336.

113. Jesenak, M. Successful treatment of severe allergic asthma with omalizumab in a girl with DiGeorge syndrome / M. Jesenak, M. Zelieskova, M. Repko, P. Banovcin // *Cent Eur J Immunol*. 2020. 45 (3): 361-363. doi: 10.5114/ceji.2020.101269. Epub 2020 Nov 1. PMID: 33437191; PMCID: PMC7790012.

114. Johnson, S. Immune deficiency in fetal alcohol syndrome / S. Johnson, R. Knight, D.J. Marmer, R.W. Steele // *Pediatr Res*. 1981 Jun; 15(6):908-11. doi: 10.1203/00006450-198106000-00005. PMID: 7195540.

115. Jung, D. Unraveling V(D) J recombination; insights into gene regulation / D. Jung, F.W. Alt // *Cell*. 2004. Jan. 23. 116 (2): 299-311. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00039-x. PMID: 14744439.

116. Källén, B. Major congenital malformations in Down syndrome / B. Källén, P. Mastroiacovo, E. Robert // *Am J Med Genet*. 1996. Oct .16. 65 (2): 160-6. doi: 10.1002/(SICI)1096-8628(19961016)65:2<160: AID-AJMG16>3.0.CO; 2-O. PMID: 8911611.

117. Kebudi, R. Primary Immunodeficiency and Cancer in Children; A Review of the Literature / R. Kebudi, A. Kiykim, M.K. Sahin // *Curr Pediatr Rev*. 2019. 15 (4): 245-250. doi: 10.2174/1573396315666190917154058. PMID: 31530267; PMCID: PMC7040504.

118. Khanna, R. Human immunology: a case for the ascent of non-furry immunology / R. Khanna, S.R. Burrows // *Immunol Cell Biol*. 2011. Mar. 89 (3): 330-1. doi: 10.1038/icb.2010.173. PMID: 21412238.

119. Krummel, M.F. Pillars article: CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation / M.F. Krummel, J.P. Allison // *Journal of experimental medicine*. 1995. 182: 459–465. *J Immunol*. 2011. 187: 3459– 65. doi: 10.1084/jem.182.2.459.

120. Kuo, C.Y. Immune and Genetic Features of the Chromosome 22q11.2 Deletion (DiGeorge Syndrome) / C.Y. Kuo, R. Signer, S.C. Saitta // *Curr Allergy Asthma Rep*. 2018. Oct. 30. 18 (12):75. doi: 10.1007/s11882-018-0823-5. PMID: 30377837.

121. Lackey, A.E. DiGeorge Syndrome / A.E. Lackey, M.R. Muzio // *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Jan. PMID: May 8. 31747205.

122. Lazanakis, M.S. Increased nuchal translucency and CATCH 22 / M.S. Lazanakis, K. Rodgers, D.L. Economides // *Prenat Diagn*. 1998. May. 18 (5): 507-10. PMID: 9621387.

123. Life expectancy and social adaptation in individuals with Down syndrome with and without surgery for congenital heart disease / T. Hijii, J. Fukushige, H. Igarashi, et al. // *Clin Pediatr (Phila)*. 1997. Jun.; 36 (6): 327-32. doi: 10.1177/000992289703600603. PMID: 9196231.

124. Lin, A.E. Further delineation of aortic dilation, dissection, and rupture in patients with Turner syndrome / A.E. Lin, B. Lippe, R.G. Rosenfeld // *Pediatrics*. 1998. Ju. 102 (1): e12. doi: 10.1542/peds.102.1.e12. PMID: 9651464.

125. Lupski J.R. Genomic disorders ten years on / J.R. Lupski // *Genome Med*. 2009. Apr 24. 1 (4): 42. doi: 10.1186/gm42. PMID: 19439022; PMCID: PMC2684663.

126. Mackall, C.L. Restoration of T-cell homeostasis after T-cell depletion / C.L. Mackall, F.T. Hakim, R.E. Gress // *Semin Immunol*. 1997 Dec;9(6):339-46. doi: 10.1006/smim.1997.0091. PMID: 9405262.

127. Makrydimas, G. Screening performance of first-trimester nuchal translucency for major cardiac defects: a meta-analysis / G. Makrydimas, A. Sotiriadis, J.P. Ioannidis // *Am J Obstet Gynecol*. 2003. Nov. 189 (5): 1330-5. doi: 10.1067/s0002-9378(03)00645-8. PMID: 14634564.

128. Malik, M.A. Wiskott-Aldrich Syndrome / M.A. Malik, M. Masab // *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. 2021. Jun 29. PMID: 30969660.

129. Manning, M. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities / M. Manning, L. Hudgins; Practice Professional, and Committee Guidelines // *Genet Med*. 2010. 12: 742–5.

130. Mazzanti, L. Congenital heart disease in patients with Turner's syndrome. Italian Study Group for Turner Syndrome (ISGTS) / L. Mazzanti, E. Cacciari // *J Pediatr*. 1998. Nov. 133 (5): 688-92. doi: 10.1016/s0022-3476(98)70119-2. PMID: 9821430.

131. MLPA: a prenatal diagnostic tool for the study of congenital heart defects? / I. Mademont-Soler, C. Morales, A. Soler, et al. // *Gene*. 2012. May 25. 500 (1): 151-4. doi: 10.1016/j.gene.2012.03.030. Epub 2012 Mar 15. PMID: 22446045.

132. Modern diagnostic capabilities of neonatal screening for primary immunodeficiencies in newborns / E.O. Khalturina, N.D. Degtyareva, A.V. Bairashevskaya, et al. // *Clin Exp Pediatr*. 2021. 64 (10): 504-510. doi:10.3345/cep.2020.01270.

133. Moro-García, M.A. Molecular mechanisms involved in the aging of the T-cell immune response / M.A. Moro-García, R. Alonso-Arias, C. López-Larrea // *Curr Genomics*. 2012. Dec. 13 (8): 589-602. doi: 10.2174/138920212803759749. PMID: 23730199; PMCID: PMC3492799.

134. Natowicz, M. Association of Turner syndrome with hypoplastic left-heart syndrome / M. Natowicz, R.I. Kelley // *Am J Dis Child*. 1987. Feb. 141 (2): 218-20. doi: 10.1001/archpedi.1987.04460020108041. PMID: 3812392.

135. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening / L. Brown, J. Xu-Bayford, Z. Allwood, et al. // *Blood*. 2011. Mar. 17. 117 (11): 3243-6. doi: 10.1182/blood-2010-08-300384. Epub 2011 Jan 27. PMID: 21273302.

136. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden-a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study / M. Barbaro, A. Ohlsson, S. Borte, et al. // *J Clin Immunol*. 2017. Jan; 37 (1): 51-60. doi: 10.1007/s10875-016-0347-5. Epub 2016. Nov 21. PMID: 27873105; PMCID: PMC5226987.

137. Nonrandom association of atrioventricular canal and del (8p) syndrome / B. Marino, A. Reale, A. Giannotti, et al. // *Am J Med Genet*. 1992 Feb 15;42(4):424-7. doi: 10.1002/ajmg.1320420404. PMID: 1609823.

138. Notarangelo, L.D. Is it necessary to identify molecular defects in primary immunodeficiency disease? / L.D. Notarangelo, R. Sorensen // *J Allergy Clin Immunol*. 2008. Dec. 122 (6): 1069-73. doi: 10.1016/j.jaci.2008.08.038. Epub 2008 Nov 6. PMID: 18992927.

139. Olson, G.B. Phytohaemagglutinin unresponsiveness of lymphocytes from babies with congenital rubella / G.B. Olson, M.A. South, R.A. Good // *Nature*. 1967. May 13. 214 (5089): 695-6. doi: 10.1038/214695a0. PMID: 6049075.

140. Outcome of congenital heart defects--a population-based study / A. Meberg, J.E. Otterstad, G. Frøland, et al. // *Acta Paediatr*. 2000. Nov. 89 (11): 1344-51. doi: 10.1080/080352500300002552. PMID: 11106048.

141. Ozdemir, O. Severe combined immune deficiency in an adenosine deaminase-deficient patient / O. Ozdemir // *Allergy Asthma Proc*. 2006 Mar-Apr;27(2):172-4. PMID: 16724639.

142. Pachlopnik Schmid, J. Modern management of primary T-cell immunodeficiencies / J. Pachlopnik Schmid, T. Güngör, R. Seger // *Pediatr Allergy*

Immunol. 2014. Jun. 25 (4): 300-13. doi: 10.1111/pai.12179. Epub 2014 Jan 3. PMID: 24383740.

143. Phadke, S.R. Prenatal screening for genetic disorders: Suggested guidelines for the Indian Scenario / S.R. Phadke, R.D. Puri, P. Ranganath // Indian J Med Res. 2017. Dec. 146 (6): 689-699. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1788_15. PMID: 29664026; PMCID: PMC5926339.

144. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects / C. Schwab, A. Gabrysch, P. Olbrich, et al. // J Allergy Clin Immunol. 2018. 142: 1932– 46. doi: 10.1016/j.jaci.2018.02.055.

145. Pieper, K. B-cell biology and development / K. Pieper, B. Grimbacher, H. Eibel // J Allergy Clin Immunol. 2013. Apr. 131 (4): 959-71. doi: 10.1016/j.jaci.2013.01.046. Epub 2013 Mar 5. PMID: 23465663.

146. Population-based study of congenital heart defects in Down syndrome / S.B. Freeman, L.F. Taft, K.J. Dooley, et al. // Am J Med Genet. 1998. Nov. 16. 80 (3): 213-7. PMID: 9843040.

147. Positive Kappa-Deleting Recombination Excision Circles (KREC) Newborn Screening in a Neonate With Intrauterine Exposure to Rituximab / R. Krüger, S. Borte, K. von Weizsäcker, et al. // Scand J Immunol. 2018. Jan. 87 (1): 54-56. doi: 10.1111/sji.12627. PMID: 29106704.

148. Pradhan, B. IoT-Based Applications in Healthcare Devices / B. Pradhan, S. Bhattacharyya, K. Pal // J Healthc Eng. 2021. Mar. 18. 2021: 6632599. doi: 10.1155/2021/6632599. PMID: 33791084; PMCID: PMC7997744.

149. Prasad, S.E. Candidate genes and the behavioral phenotype in 22q11.2 deletion syndrome / S.E. Prasad, S. Howley, K.C. Murphy // Dev Disabil Res Rev. 2008. 14 (1): 26-34. doi: 10.1002/ddrr.5. PMID: 18636634.

150. Prenatal and postnatal diagnosis of 22q11.2 deletion syndrome / F. Bretelle, L. Beyer, M.C. Pellissier, et al. // Eur J Med Genet. 2010. Nov-Dec. 5. 3 (6): 367-70. doi: 10.1016/j.ejmg.2010.07.008. Epub 2010 Jul 24. PMID: 20659598.

151. Prenatal diagnosis of 22q11 microdeletion in an early second-trimester fetus with conotruncal anomaly presenting with increased nuchal translucency and

bilateral intracardiac echogenic foci / A. Machlitt, C. Tennstedt, H. Körner, et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002. May. 19. (5): 510-3. doi: 10.1046/j.1469-0705.2002.00688.x. PMID: 11982988.

152. Prenatal detection of rare chromosomal autosomal abnormalities in Europe / N. Baena, C. De Vigan, E. Cariatì, et al.; EUROSCAN Working Group // *Am J Med Genet A.* 2003. May 1; 118A (4): 319-27. doi: 10.1002/ajmg.a.10104. PMID: 12687662.

153. Prevalence of 22q11 microdeletions in DiGeorge and velocardiofacial syndromes: implications for genetic counselling and prenatal diagnosis / D.A. Driscoll, J. Salvin, B. Sellinger, et al. // *J Med Genet.* 1993. Oct. 30 (10): 813-7. doi: 10.1136/jmg.30.10.813. PMID: 8230155; PMCID: PMC1016560.

154. Primary immunodeficiency and autoimmunity: A comprehensive review / L. Amaya-Urìbe, M. Rojas, G. Azizi, et al. // *J Autoimmun.* 2019. May. 99: 52-72. doi: 10.1016/j.jaut.2019.01.011. Epub 2019 Feb 20. PMID: 30795880.

155. Primary immunodeficiency diseases: Genomic approaches delineate heterogeneous Mendelian disorders / A. Stray-Pedersen, H.S. Sorte, P. Samarakoon, et al. // *J Allergy Clin Immunol.* 2017. Jan. 139 (1): 232-245. doi: 10.1016/j.jaci.2016.05.042. Epub 2016 Jul 16. Erratum in: *J Allergy Clin Immunol.* 2018. Feb; 141(2):832. PMID: 27577878; PMCID: PMC5222743.

156. Primer estudio piloto en España sobre el cribado neonatal de las inmunodeficiencias primarias: TRECS y KRECS identifican linfopenias T y B graves [A first pilot study on the neonatal screening of primary immunodeficiencies in Spain: TRECS and KRECS identify severe T- and B-cell lymphopenia] / P. Olbrich, B. de Felipe, C. Delgado-Pecellin, et al. // *An Pediatr (Barc).* 2014. Nov. 81 (5): 310-7. Spanish. doi: 10.1016/j.anpedi.2014.08.002. Epub 2014 Sep 30. PMID: 25278007.

157. Prospective neonatal screening for severe T- and B-lymphocyte deficiencies in Seville / B. de Felipe, P. Olbrich, J.M. Lucenas, et al. // *Pediatr Allergy Immunol.* 2016. Feb. 27 (1): 70-7. doi: 10.1111/pai.12501. Epub 2015 Nov 23. PMID: 26498110.

158. Psychiatric disorders from childhood to adulthood in 22q11.2 deletion syndrome: results from the International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 Deletion Syndrome / Schneider M., Debbané M., Bassett A.S., et al.; International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 Deletion Syndrome // *Am J Psychiatry*. 2014. Jun. 171 (6): 627-39. doi: 10.1176/appi.ajp.2013.13070864. PMID: 24577245; PMCID: PMC4285461.

159. Pueschel, S.M. Clinical aspects of Down syndrome from infancy to adulthood / S.M. Pueschel // *Am J Med Genet Suppl*. 1990. 7: 52-6. doi: 10.1002/ajmg.1320370708. PMID: 2149974.

160. Quantification of T cell receptor rearrangement excision circles to estimate thymic function: an important new tool for endocrine-immune physiology / V. Geenen, J.F. Poulin, M.L. Dion, et al. // *J Endocrinol*. 2003. Mar.; 176 (3): 305-11. doi: 10.1677/joe.0.1760305. PMID: 12630915.

161. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe / D. Wellesley, H. Dolk, P.A. Boyd, et al. // *Eur J Hum Genet*. 2012. May. 20 (5): 521-6. doi: 10.1038/ejhg.2011.246. Epub 2012 Jan 11. PMID: 22234154; PMCID: PMC3330224.

162. Raymond, F.L. Prenatal diagnosis of 22q11 deletions: a series of five cases with congenital heart defects / F.L. Raymond, J.M. Simpson, C.M. Mackie, G.K. Sharland // *J Med Genet*. 1997. Aug. 34 (8): 679-82. doi: 10.1136/jmg.34.8.679. PMID: 9279763; PMCID: PMC1051033.

163. Recurrence of DiGeorge syndrome: prenatal detection by FISH of a molecular 22q11 deletion / J.O. Van Hemel, C. Schaap, D. Van Opstal, et al. // *J Med Genet*. 1995. Aug. 32 (8): 657-8. doi: 10.1136/jmg.32.8.657. PMID: 7473663; PMCID: PMC1051646.

164. Recurrence, submicroscopic complexity, and potential clinical relevance of copy gains detected by array CGH that are shown to be unbalanced insertions by FISH / N.J. Neill, B.C. Ballif, A.N. Lamb, et al. // *Genome Res*. 2011.

Apr. 21 (4): 535-44. doi: 10.1101/gr.114579.110. Epub 2011 Mar 7. PMID: 21383316; PMCID: PMC3065701.

165. Rego, S.M. High Throughput Sequencing and Assessing Disease Risk / S.M. Rego, M.P. Snyder // Cold Spring Harb Perspect Med. 2019. 9 (1). 026849. Published. 2019. Jan 2. doi:10.1101/cshperspect.a026849.

166. Retinoic acid embryopathy / E.J. Lammer, D.T. Chen, R.M. Hoar, et al. // N Engl J Med. 1985. Oct 3. 313 (14): 837-41. doi: 10.1056/NEJM198510033131401. PMID: 3162101.

167. Ribeiro, R.M. Determining thymic output quantitatively: using models to interpret experimental T-cell receptor excision circle (TREC) data / R.M. Ribeiro, A.S. Perelson // Immunol Rev. 2007. Apr. 216:21-34. doi: 10.1111/j.1600-065X.2006.00493.x. PMID: 17367332.

168. Riccardi, V.M. Trisomy 8: an international study of 70 patients / V.M. Riccardi // Birth Defects Orig Artic Ser. 1977. 13 (3C): 171-84. PMID: 890109.

169. Routine ultrasound examination at 12 or 18 gestational weeks for prenatal detection of major congenital heart malformations? A randomised controlled trial comprising 36,299 fetuses / M. Westin, S. Saltvedt, G. Bergman, et al. // BJOG. 2006. Jun. 113 (6): 675-82. doi: 10.1111/j.1471-0528.2006.00951.x. PMID: 16709210.

170. Sanger Confirmation Is Required to Achieve Optimal Sensitivity and Specificity in Next-Generation Sequencing Panel Testing / W. Mu, H.M. Lu, J. Chen, et al. // J Mol Diagn. 2016. Nov. 18 (6): 923-932. doi: 10.1016/j.jmoldx.2016.07.006. Epub 2016 Oct 6. PMID: 27720647.

171. Shaw, C.J. Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease / C.J. Shaw, J.R. Lupski // Hum Mol Genet. 2004. Apr 1. 13. Spec. № 1: 57-64. doi: 10.1093/hmg/ddh073. Epub 2004 Feb 5. PMID: 14764619.

172. Shinwari, K. Newborn Screening through TREC, TREC/KREC System for Primary Immunodeficiency with limitation of TREC/KREC. *Comprehensive Review / K. Shinwari, M. Bolkov, I.A. Tuzankina, V.A. Chereshevnev // Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2021. 20 (2): 132-149. doi: 10.2174/1871523019999200730171600. PMID: 32748762.

173. Significance of chromosome 22q11 analysis after detection of an increased first-trimester nuchal translucency / B. Hollis, E. Mavrides, J.S. Carvalho, et al. // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001. Jul.; 18 (1): 32-4. doi: 10.1046/j.1469-0705.2001.00434.x. PMID: 11489222.

174. Siminovitch, K.A. A uniform deleting element mediates the loss of kappa genes in human B cells / K.A. Siminovitch, A. Bakhshi, P. Goldman, S.J. Korsmeyer // *Nature.* 1985. Jul 18-24. 316 (6025): 260-2. doi: 10.1038/316260a0. PMID: 3927169.

175. Smulski, C.R. BAFF and BAFF-Receptor in B Cell Selection and Survival / C.R. Smulski, H. Eibel // *Front Immunol.* 2018. Oct. 8. 9: 2285. doi: 10.3389/fimmu.2018.02285. PMID: 30349534; PMCID: PMC6186824.

176. South, M.A. Immune deficiency in congenital rubella and other viral infections / M.A. South, J.R. Montgomery, W.E. Rawls // *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1975. 11 (1): 234-8. PMID: 167881.

177. Stevens, A.J. Allelic Dropout During Polymerase Chain Reaction due to G-Quadruplex Structures and DNA Methylation Is Widespread at Imprinted Human Loci / A.J. Stevens, M.G. Taylor, F.G. Pearce, M.A. Kennedy // *G3 (Bethesda).* 2017. Mar 10. 7 (3): 1019-1025. doi: 10.1534/g3.116.038687. PMID: 28143949; PMCID: PMC5345703.

178. Sullivan, K.E. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome / K.E. Sullivan // *Immunol Rev.* 2019. Jan. 287 (1): 186-201. doi: 10.1111/imr.12701. PMID: 30565249.

179. Suri, D. X-linked Agammaglobulinemia / D. Suri, A. Rawat, S. Singh // *Indian J Pediatr.* 2016. Apr. 3 (4): 331-7. doi: 10.1007/s12098-015-2024-8. Epub 2016 Feb 24. PMID: 26909497.

180. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study / A.K. Ryan, J.A. Goodship, D.I. Wilson, et al. // *J Med Genet.* 1997. Oct. 34 (10): 798-804. doi: 10.1136/jmg.34.10.798. PMID: 9350810; PMCID: PMC1051084.

181. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / S. Richards, N. Aziz, S. Bale, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee // *Genet Med.* 2015. May. 17 (5): 405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25741868; PMCID: PMC4544753.

182. Structure of the highly conserved HERC2 gene and of multiple partially duplicated paralogs in human / Y. Ji, N.A. Rebert, J.M. Joslin, et al. // *Genome Res.* 2000. Mar. 10 (3): 319-29. doi: 10.1101/gr.10.3.319. PMID: 10720573; PMCID: PMC311424.

183. Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases / D. Alagille, A. Estrada, M. Hadchouel, et al. // *J Pediatr.* 1987. Feb; 110 (2): 195-200. doi: 10.1016/s0022-3476(87)80153-1. PMID: 3806290.

184. T cell receptor excision circles as markers for recent thymic emigrants: basic aspects, technical approach, and guidelines for interpretation / M.D. Hazenberg, M.C. Verschuren, D. Hamann, et al. // *J Mol Med (Berl).* 2001. Nov. 79 (11): 631-40. doi: 10.1007/s001090100271. PMID: 11715066.

185. T cell receptor excision circle assessment of thymopoiesis in aging mice / G.D. Sempowski, M.E. Gooding, H.X. Liao, et al. // *Mol Immunol.* 2002. Mar. 38 (11): 841-8. doi: 10.1016/s0161-5890(01)00122-5. Erratum in: *Mol Immunol* 2002 Oct; 39(5-6):379-80. PMID: 11922942.

186. T cell receptor gene deletion circles identify recent thymic emigrants in the peripheral T cell pool / F.K. Kong, C.L. Chen, A. Six, et al. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999. Feb. 16. 96 (4): 1536-40. doi: 10.1073/pnas.96.4.1536. PMID: 9990059; PMCID: PMC15507.

187. T cell rewiring in differentiation and disease. / S. Krishnan, D.L. Farber, G.C. Tsokos // *J Immunol*. 2003; 171(7). P. 3325-3331. doi:10.4049/jimmunol.171.7.3325.

188. Testing for 22q11 microdeletion in 146 fetuses with nuchal translucency above the 99th percentile and a normal karyotype / C.K. Lautrup, S. Kjaergaard, K. Brøndum-Nielsen, et al. // *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2008;87(11):1252-5. doi: 10.1080/00016340802482994. PMID: 18951212.

189. The 11q terminal deletion disorder: a prospective study of 110 cases / P.D. Grossfeld, T. Mattina, Z. Lai, et al. // *Am J Med Genet A*. 2004. Aug. 15; 129A (1): 51-61. doi: 10.1002/ajmg.a.30090. PMID: 15266616.

190. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies / A. Bousfiha, L. Jeddane, C. Picard, et al. // *J Clin Immunol*. 2018. Jan.; 38(1): 129-143. doi: 10.1007/s10875-017-0465-8. Epub 2017 Dec 11. PMID: 29226301; PMCID: PMC5742599.

191. The DiGeorge syndrome and the fetal alcohol syndrome / A.J. Ammann, D.W. Wara, M.J. Cowan, et al. // *Am J Dis Child*. 1982. Oct.; 136 (10): 906-8. doi: 10.1001/archpedi.1982.03970460036008. PMID: 6812410.

192. The Ever-Increasing Array of Novel Inborn Errors of Immunity: an Interim Update by the IUIS Committee / S.G. Tangye, W. Al-Herz, A. Bousfiha, et al. // *J Clin Immunol*. 2021. Apr. 41 (3): 666-679. doi: 10.1007/s10875-021-00980-1. Epub 2021 Feb 18. PMID: 33598806; PMCID: PMC7889474.

193. The phenotype of human STK4 deficiency / H. Abdollahpour, G. Appaswamy, D. Kotlarz, et al. // *Blood*. 2012. Apr 12. 119 (15): 3450-7. doi:

10.1182/blood-2011-09-378158. Epub 2012 Jan 31. PMID: 22294732; PMCID: PMC3325036.

194. The Philadelphia story: the 22q11.2 deletion: report on 250 patients / D.M. McDonald-McGinn, R. Kirschner, E. Goldmuntz, et al. // *Genet Couns.* 1999. 10 (1): 11-24. PMID: 10191425.

195. Tracking gene expression in primary immunodeficiencies / H. Qin, M. Yamada, L. Tian, et al. // *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2003. 3: 437–42.

196. TREC and KREC in very preterm infants: reference values and effects of maternal and neonatal factors / G. Remaschi, S. Ricci, M. Cortimiglia, et al. // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021. Dec. 34 (23): 3946-3951. doi: 10.1080/14767058.2019.1702951. Epub 2019 Dec 29. PMID: 31885296.

197. TREC and KREC Levels as a Predictors of Lymphocyte Subpopulations Measured by Flow Cytometry / I. Korsunskiy, O. Blyuss, M. Gordukova, et al. // *Front Physiol.* 2019. Jan. 21, 9: 1877. doi: 10.3389/fphys.2018.01877. PMID: 30719006; PMCID: PMC6348265.

198. Trends in resource use and effectiveness of ultrasound detection of fetal structural anomalies in France: a multiple registry-based study / C. Ferrier, F. Dhombres, B. Khoshnood, et al. // *BMJ Open.* 2019. Feb. 15. 9 (2): e025482. doi: 10.1136/bmjopen-2018-025482. Erratum in: *BMJ Open.* 2019. May 9; 9(5):e025482corr1. PMID: 30772861; PMCID: PMC6398629.

199. Trisomy 8: an additional case with unique manifestations [correction] / M.I. de Michelena, R. Sánchez, P. Muñoz, et al. // *Am J Med Genet.* 1992. Jul. 1; 43 (4): 697-700. doi: 10.1002/ajmg.1320430409. Erratum in: *Am J Med Genet* 1993 Jun 15; 46 (5):605. PMID: 1621760.

200. Trisomy 8 mosaicism syndrome / R.M. Fineman, R.C. Ablow, R.O. Howard, et al. // *Pediatrics.* 1975. Nov. 56 (5): 762-7. PMID: 1196733.

201. Turner's syndrome: cardiologic profile according to the different chromosomal patterns and long-term clinical follow-Up of 136 nonpreselected

patients / D. Prandstraller, L. Mazzanti, F.M. Picchio, et al. // *Pediatr Cardiol.* 1999. Mar-Apr. 20 (2): 108-12. doi: 10.1007/s002469900416. PMID: 9986886.

202. Use of Genetic Testing for Primary Immunodeficiency Patients / J.R. Heimall, D. Hagin, J. Hajjar, et al. // *J Clin Immunol.* 2018. Apr.; 38 (3): 320-329. doi: 10.1007/s10875-018-0489-8. Epub 2018 Apr 19. Erratum in: *J Clin Immunol.* 2018. May 21: PMID: 29675737.

203. Valvular heart disease (aortic regurgitation and mitral valve prolapse) among institutionalized adults with Down's syndrome / S.Z. Goldhaber, I.L. Rubin, W. Brown, et al. // *Am J Cardiol.* 1986. Feb. 1; 57 (4): 278-81. doi: 10.1016/0002-9149(86)90905-7. PMID: 2936232.

204. van Zelm, M.C. PID comes full circle: applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders / M.C. van Zelm, M. van der Burg, A.W. Langerak, J.J. van Dongen // *Front Immunol.* 2011. May 4. 2: 12. doi: 10.3389/fimmu.2011.00012. PMID: 22566803; PMCID: PMC3342366.

205. van Zelm, M.C. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion / M.C. van Zelm, T. Szczepanski, M. van der Burg, J.J. van Dongen // *J Exp Med.* 2007. Mar. 19. 204 (3): 645-55. doi: 10.1084/jem.20060964. Epub 2007 Feb 20. PMID: 17312005; PMCID: PMC2137914.

206. Viana, R.V. Good Clinical Laboratory Practice (GCLP) for molecular based tests used in diagnostic laboratories / R.V. Viana, C.L. Wallis // Akyar I., editor. *Wide spectra of quality control.* Rijeka, Croatia: Intech, 2011: 29–52.

207. Visootsak, J. Jr. Klinefelter syndrome and its variants: an update and review for the primary pediatrician / J. Visootsak, M. Aylstock, J.M. Graham // *Clin Pediatr (Phila).* 2001. Dec. 40 (12): 639-51. doi: 10.1177/000992280104001201. PMID: 11771918.

208. Wayne, P.A. CLSI. Evaluation of the Linearity of a Quantitative Measurement Procedure: A statistical Approach; Approved Guideline / P.A. Wayne // *Clinical and Laboratory Standards Institute.* 2003.

209. Wooldridge, J. Trisomy 9 syndrome: report of a case with Crohn disease and review of the literature / J. Wooldridge, J. Zunich // *Am J Med Genet.* 1995. Apr. 10. 56 (3): 258-64. doi: 10.1002/ajmg.1320560304. PMID: 7778585.
210. Wyllie, J.P. Natural history of trisomy 13 / J.P. Wyllie, M.J. Wright, J. Burn, S. Hunter // *Arch Dis Child.* 1994 Oct. 71 (4): 343-5. doi: 10.1136/adc.71.4.343. PMID: 7979530; PMCID: PMC1030016.
211. Congenital heart defects: natural course and in utero development / S. Yagel, A. Weissman, Z. Rotstein, et al. // *Circulation.* 1997. Jul 15. 96 (2): 550-5. doi: 10.1161/01.cir.96.2.550. PMID: 9244224.
212. Ye, P. Measuring emigration of human thymocytes by T-cell receptor excision circles / P. Ye, D.E. Kirschner // *Crit Rev Immunol.* 2002. 22 (5-6): 483-97. PMID: 12803323.
213. Ye, P. Reevaluation of T cell receptor excision circles as a measure of human recent thymic emigrants / P. Ye, D.E. Kirschner // *J Immunol.* 2002 May 15;168(10):4968-79. doi: 10.4049/jimmunol.168.10.4968. PMID: 11994448.
214. The early development of the fetal kidney-an in utero sonographic evaluation between 13 and 22 weeks' gestation / Y. Zalel, D. Lotan, R. Achiron, et al. // *Prenat Diagn.* 2002. Nov. 22 (11): 962-5. doi: 10.1002/pd.436. PMID: 12424756.
215. Zarrei, M. A copy number variation map of the human genome / M. Zarrei, J.R. MacDonald, D. Merico, S.W. Scherer // *Nat Rev Genet.* 2015. 16: 172-83.
216. Ziegler, J.B. Primary Immunodeficiency: New Approaches in Genetic Diagnosis, and Constructing Targeted Therapies / J.B. Ziegler, M. Ballou // *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019. Mar. 7 (3): 839-841. doi: 10.1016/j.jaip.2018.12.019. PMID: 30832894.
217. Genotype-phenotype correlations and clinical diagnostic criteria in Wolf-Hirschhorn syndrome / M. Zollino, C. Di Stefano, G. Zampino, et al. // *Am J Med Genet.* 2000. Sep. 18. 94 (3): 254-61. doi: 10.1002/1096-8628(20000918)94:3<254::aid-ajmg13>3.0.co;2-7. PMID: 10995514.

218. Early diagnosis of major cardiac defects in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency / N. Zosmer, V.L. Souter, C.S. Chan, et al. // Br J Obstet Gynaecol. 1999. Aug. 106 (8): 829-33. doi: 10.1111/j.1471-0528.1999.tb08405.x. PMID: 10453834.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВКО	внутренний контрольный образец
ВОИ	врожденные ошибки иммунитета
ВПС	врожденный порок сердца
ГЛГ	гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз
ДЛВПВ	добавочная левая верхняя полая вена
ДМЖП	дефект межжелудочковой перегородки
ДМПШ	дефект межпредсердной перегородки
ДН	дыхательная недостаточность
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКБ	желчекаменная болезнь
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
ЛПУ	лечебно-профилактическое учреждения
МВПР	множественные врожденные пороки развития
МКБ	международный классификатор болезней
МПС	мочеполовая система
НМПК	нарушение маточно-плацентарного кровотока
НЭИм система	нейроэндокринноиммунная система
ОАП	общий артериальный проток
ОВИН	общая переменная иммунная недостаточность
ОПН	отделение патологии новорожденных
ОРВИ	острая респираторная вирусная инфекция
ОРЗ	острое респираторное заболевание
ПИД	первичный иммунодефицит
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СГЛС	синдром гипоплазия левых отделов сердца
СЗРП	синдром задержки развития плода
СПОН	синдром полиорганной недостаточности

ССС	сердечно-сосудистая система
ТВП	толщина воротникового пространства
ТКИН	тяжелая комбинированная иммунная недостаточность
ТМС	транспозиция магистральных сосудов
УЗИ	ультразвуковое исследование
ХА	хромосомные аномалии
ХМА	хромосомно-матричный анализ
ХФПН	хроническая фетоплацентарная недостаточность
ЭДТА	этилендиаммонийтретрацетат
ЭС	эндокринная система
ADA	adenosine deaminase (аденозиндезаминаза)
BCR	B-cell receptor (В-клеточный рецептор)
CATCH-22	cardiac defects (врожденные пороки сердца), abnormal facies (лицевые аномалии), thymic hypoplasia (гипоплазия тимуса), cleft palate (расщелина верхнего неба), hypocalcemia (гипокальциемия), 22q11 deletion (делеция 22q11)
CGH	comparative genomic hybridization (сравнительная геномная гибридизация)
CNV	copy number variation (вариации числа копий)
ESID	European society for immunodeficiency (европейское общество по иммунодефицитам)
FACS	fluorescents-activated cell sorting (флуоресцентно активируемый клеточный сортинг)
HLA	human leukocyte antigen (человеческий лейкоцитарный антиген)
IUIS	international union of immunologic societies (международное объединение иммунологических сообществ)

KREC	каппа-deleting recombination excision circle (эписомальная кольцевая молекула ДНК, образующаяся при реаранжировке генов В-клеточного рецептора)
MHC	mean histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)
MLPA	multiplex ligation depended probe amplification (мультиплексная лигазо-зависимая амплификация проб)
NGS	next generating sequencing (секвенирование следующего поколения)
SNP	single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)
TCR	T-cell receptor (Т-клеточный рецептор)
TREC	T-cell recombination excision circles (эписомальная кольцевая молекула ДНК, образующаяся при реаранжировке генов Т-клеточного рецептора)
WES	whole exome sequencing (полноэкзомное секвенирование)
WGS	whole genome sequencing (полногеномное секвенирование)