

По следам V Всероссийского Съезда Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России (АДАИР)

FOLLOWING THE V ALL-RUSSIAN CONGRESS OF THE ASSOCIATION OF PEDIATRIC ALLERGOLOGISTS AND IMMUNOLOGISTS OF RUSSIA (APAIR)

Скрининговая диагностика первичных иммунодефицитов в практике врача аллерголога-иммунолога

SCO — краткое сообщение

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-1-35-38>**Л. Ю. Барычева, Л. С. Хачирова, В. А. Фирсова, С. Ю. Фарсиянц***Ставропольский государственный медицинский университет, 355002, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Россия***Ключевые слова:** врожденные иммунодефициты, TREC, KREC.**Для цитирования:** Барычева ЛЮ, Хачирова ЛС, Фирсова ВА, Фарсиянц СЮ. Скрининговая диагностика первичных иммунодефицитов в практике врача аллерголога-иммунолога. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2023; 1: 35–38. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-1-35-38>

Screening diagnosis of primary immunodeficiencies in the practice of an al- lergist-immunologist

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-1-35-38>**L. Y. Barycheva, L. S. Khachirova, V. A. Firsova, S. Ju. Farsijanc***Stavropol State Medical University, 310, Mira st., Stavropol, 355002, Russia***Keywords:** primary immunodeficiencies, TREC, KREC.**For citation:** Barycheva LY, Khachirova LS, Firsova VA, Farsijanc SJu. Screening diagnosis of primary immunodeficiencies in the practice of an allergist-immunologist. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2023; 1: 35–38. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-1-35-38>

В течение последнего десятилетия в практику здравоохранения многих стран активно внедряется определение побочных кольцевых ДНК-продуктов реаранжировки генов антиген-распознающих рецепторов — TREC (T-cell receptor excision circle) и KREC (каппа-deleting recombination excision circle) — как универсальных маркеров Т- и В-клеточных ПИД [1, 2, 3, 4].

Доказана эффективность анализа TREC для верификации тяжелого комбинированного иммунодефицита, комбинированных иммунных нарушений без идентифицируемой молекулярной причины, синдромальных ИДС. Установлена эффективность определения KREC для диагностики врожденных агаммаглобулинемий [1, 2, 3, 4].

Материалы и методы

Проведен ретроспективный обзор 6 клинических случаев у пациентов, госпитализированных в ГБУЗ СК «КДКБ» (Ставрополь) в 2019–2021 годах с нарастающими признаками ПИД [5] и попавших в «поле зрения» врача-иммунолога.

Определение TREC и KREC выполнялось в образцах периферической крови или сухих пятнах крови на картах неонатального скрининга методом ПЦР с помощью отечественной мультиплексной тест-системы «ИММУНО-БИТ». Исследование иммунного статуса осуществлялось в отделении лабораторной диагностики АНМО «СКККДЦ» (Ставрополь). Молекулярно-генетическое исследование проводилось на этапе уточнения диагноза во время госпитализации пациентов в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ

или РДКБ ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н. И. Пирогова» МЗ РФ методом прямого секвенирования по Сенгеру или полногеномного секвенирования нового поколения (NGS) («панель иммунологическая») в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева».

Результаты и их обсуждение

Пациент 1. С первых дней жизни — упорный кандидоз слизистых ротовой полости, плохая прибавка в весе, сыпь на коже. В возрасте 10 дней появились лихорадка, судороги, сопорозное сознание. Госпитализирован в реанимационное отделение ГБУЗ СК «КДКБ». Диагноз: «Генерализованная цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ): менингоэнцефалит, двусторонняя полисегментарная пневмония, хориоретинит, гепатит. Судорожный синдром. Гипотрофия 2 степени». В биологических средах прослеживалась высокая ЦМВ-нагрузка: до 420000 копий/мл в ликворе, до 455000 копий/мл в крови, до 352000 копий/мл в бронхо-легочном аспирате. В общем анализе крови — стойкая лимфопения (6–12%). Заподозрен тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), выполнен мультиплексный анализ количества TREC и KREC. Выявлено полное отсутствие TREC. При иммунофенотипировании — резкое снижение числа CD3±, CD3+CD4± и CD3+CD8± лимфоцитов; гипои иммуноглобулинемия. Выполнено генетическое исследование. Уточненный диагноз: тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (Т-В+НК-), X-сцепленный вариант (IL2RG. c.116-1G>C, GRCh38.p3 в гемизиготном состоянии).

Пациент 2. Болен с 2 лет; до 4 лет перенес пиодермию, панариций, фурункулез, неоднократно паронихии. В 4-летнем возрасте развилась генерализованная бактериальная инфекция (*Pseudomonas aeruginosa*), септикопиемический вариант: пиодермия, абсцессы и некрозы в области верхних и нижних конечностей, геморрагический васкулит, нейропатия с нижним парапарезом, ДВС-синдром. При биохимическом исследовании крови установлено снижение гамма-фракции белков до 3%. Инфекционный процесс купировался на фоне антибактериальной терапии (меропонем, ванкомицин, офлоксацин) и введения внутривенных иммуноглобулинов. Заподозрен первичный иммунодефицит. При скрининговом обследовании выявлено резкое снижение уровня KREC и нормальное количество TREC. Число CD19± лимфоцитов в крови было очень низким; установ-

лено выраженное снижение концентраций IgM и IgG и полное отсутствие IgA в сыворотке крови. Диагностическая гипотеза: наследственная агаммаглобулинемия. Выполнено прямое секвенирование по Сенгеру. В гене тирозинкиназы Брутона (BTK) установлена однонуклеотидная замена c.240+1G>C, GRCh38.p5 в гемизиготном состоянии, приводящая к разрушению донорного сайта сплайсинга. Предположительный диагноз «X-сцепленная агаммаглобулинемия» подтвержден.

Пациент 3. Девочка от 1-й беременности, срочных родов. В роддоме вакцинирована (БЦЖ, гепатит В) без побочных реакций. С первых месяцев жизни отмечены задержка в прибавке массы тела, частые респираторные инфекции с длительной гипертермией, затяжной насморк с гнойным отделяемым из носа, периодически жидкий водянистый стул до 5–6 раз в сутки, эпизоды лейкопении до $1,2 \times 10^9$ клеток/л, лимфопении и тромбоцитопении. В 2 года 6 месяцев ребенок весил 9 кг; при объективном осмотре обращали на себя внимание отставание в росте, микроцефалия, пятна депигментации на коже туловища, гепатоспленомегалия (печень +5 см, селезенка +1,5 см из-под края реберной дуги), диспептический синдром. При скрининговом мультиплексном анализе установлено полное отсутствие TREC и KREC. Выявлено снижение числа циркулирующих CD3± лимфоцитов и концентрации IgM в сыворотке крови, а также резкое снижение уровней IgG и IgA. Выполнено полногеномное секвенирование, уточнен генетический вариант комбинированного иммунодефицита (SCID) — дефект гена LIG4 (замена нуклеотида c.845A>G в гетерозиготном состоянии, приводящая к замене аминокислоты p.H282R. и замена нуклеотида c.1199T>G в гетерозиготном состоянии, приводящая к замене аминокислоты p.I1400R.).

Пациент 4. Ребенок болен с 1 года и 4 месяцев, когда на фоне полного благополучия появились приступы кашля, одышки, диагностирована Т-клеточная лимфобластная лимфома с поражением средостения, III стадии. Получал программную химиотерапию по протоколу VFM-LMB. В этот же период прогрессировали шаткость походки, нарушение координации движений, телеангиэктазия склер. В течение года перенес крупноочаговую левостороннюю пневмонию, дважды гнойный средний отит с гноетечением, гнойный гайморит. В динамике наблюдения прослеживалась лимфопения

(12–20%), увеличение альфа-фетопротеина — 99,35 нг/мл (норма — 0–12 нг/мл). Консультирован иммунологом, заподозрен ПИД с синдромальными нарушениями. Выполнен мультиплексный анализ эксцизионных колец: TREC отсутствовали, количество KREC было в пределах нормы. Методом прямого секвенирования по Сенгеру подтверждена мутация в гене ATM с.3928С>Тр. Gen1310Ter в гомозиготном состоянии. Диагноз «Первичный иммунодефицит с атаксией-телеангиэктазией» подтвержден.

Пациент 5. Ребенок болен с 2-недельного возраста, когда появилась распространенная гнойничковая и экземоподобная сыпь, абсцедирующие фурункулы щечной, заушной и ягодичной области с умеренными признаками локального воспаления. На фоне антибактериальной терапии в условиях хирургического отделения ГБУЗ СК КДКБ развилась тяжелая пневропневмония (*Staphylococcus aureus*), осложненная образованием пневмоцеле и бронхоплеврального свища. В последующем — хронический парапроктит с формированием свища заднего прохода, резистентный к лечению. В динамике лабораторного обследования обращали на себя внимание стойкая эозинофилия (12–37%), трехкратное увеличение уровня общего IgE в сыворотке крови. Девочка осмотрена иммунологом. Заподозрен первичный иммунодефицит: гипер-IgE-синдром. При скрининговом исследовании эксцизионных колец установлено, что уровни TREC и KREC умеренно снижены. Генетическое исследование по Сенгеру (chr17:42322467 G>A в гене STAT3) подтвердило синдром Джоба.

Пациент 6. Девочка больна с первых недель жизни. На 10-е сутки перенесла кишечную инфекцию в тяжелой форме, на фоне которой нарушение сознания в течение 3 дней до комы 1-й степени, длительная госпитализация по месту жительства в течение 1 месяца. С 4–6 месяцев — частые респираторные инфекции (тонзиллофарингит, ринофарингит, ларинготрахеит, бронхит, гнойный гайморит, пневмонии), отставание темпов роста, набора массы тела, периодически гипертермия до 39,5 °С, эпизоды повторной рвоты, диареи.

Потребность в антибактериальной терапии — до 5–6 курсов в год. В возрасте 5 лет появились очаги гнездного облысения на голове, поредели брови, в последующем развилась тотальная алопеция. С 1 года прогрессировал онихомироз, с 1,5 лет — проявления кандидозного дерматита, затяжного вульвовагинита. Уровни TREC и KREC были соответственно в 2 и 6 раз меньше нижней границы нормы. Диагностическая гипотеза: APESCED-синдром (аутоиммунная полиэндокринопатия-кандидоз-эктодермальная дисплазия). Девочка госпитализирована в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»; при выполнении полногеномного секвенирования генетический диагноз уточнить не удалось. Наблюдается с диагнозом «первичный комбинированный иммунодефицит, недифференцированный вариант»; получает профилактическую антибактериальную и противогрибковую терапию, инфузии внутривенных иммуноглобулинов.

Таким образом, у 5 из 6 обследованных детей с нарастающими признаками ПИД установлено резкое снижение количества одного (TREC или KREC) или обоих (TREC + KREC) показателей эксцизионных колец, что подтверждалось данными иммунофенотипирования лимфоцитов и определением концентраций основных изоформ иммуноглобулинов в сыворотке крови. В результате молекулярно-генетического исследования в последующем верифицированы: ТКИН (мутация гена IL2RGC.116-1G>CGRCh38.p3), болезнь Брутона (ВТК, с.240+1G>C GRCh38.p5), атаксия-телеангиэктазия (АТМ, с.3928С>ТрGen1310Ter), ТКИН с дефектом ДНК-лигазы IV (LIG4 с.845А>G, р.Н282R. с.1199Т>G, р.11400R), гипер-IgE-синдром (STAT3, chr17:42322467 G>A). В одном случае диагностический поиск продолжается. Представленные в работе сведения позволяют использовать количественное определение TREC и KREC методом мультиплексного анализа в качестве эффективного и недорогого метода выявления ПИД у детей с нарастающими признаками на ранних этапах диагностического поиска [1–5].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kwan A, Puck JM. History and current status of newborn screening for severe combined immunodeficiency. *Semin Perinatol.* 2015; 39 (3): 194–205. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.03.004>.
2. Kwan A, Abraham RS, Currier R, Brower A, Andruszewski K, Abbott JK et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA.* 2014; 312: 729–738. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.9132>.

3. Bloom M, Bredius RGM, Weijman G, Dekkers EHBM, Kemper EA, van den Akker-van Marle ME et al. Introducing Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID) in the Dutch Neonatal Screening. Program Int. J. Neonatal Screen. 2018; 4 (4): 40. <https://doi.org/10.3390/ijns4040040>.
4. Barbaro M, Ohlsson A, Borte S, Jonsson S, Zetterström RH, King J et al. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden – a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. J Clin Immunol. 2017; 37 (1): 51–60. <https://doi.org/10.1007/s10875-016-0347-5>.
5. Modell V, Orange JS, Quinn J, Modell F. Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities, and physician reported outcomes. Immunol Res. 2018; 66 (3): 367–380. <https://doi.org/10.1007/s12026-018-8996-5>.