

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИ-ДЖОРДЖИ

© 2019 г. И. А. Пашнина^{1*}, Е. В. Власова¹, С. С. Дерябина²

*E-mail: irina_pashnina@list.ru

¹ГАУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия

²ГБУЗ Свердловской области Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка», Екатеринбург, Россия

Поступила: 21.05.2019. Принята: 27.06.2019

Обследовано 34 ребенка и 3 взрослых больных с синдромом Ди Джорджи. У 33 из 34 детей выявлена делеция $del22q11.2$. У 30 обследованных детей диагностирован врожденный порок сердца, у 12 из них – в сочетании с другими пороками, у всех детей отмечался лицевой дисморфизм. У детей младшего возраста в большей степени была выражена задержка физического и речевого развития. У всех детей были выявлены признаки нарушения противоинфекционной защиты: наблюдались острые и хронические процессы вирусно-бактериальной этиологии различной локализации. Летальные исходы констатированы у четырех детей: у троих – от генерализованного инфекционного процесса, у одного – от гипокальциемического криза. При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, снижение абсолютного количества Т-клеток, Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток наблюдалось у 59–68% детей. Снижение количества В-лимфоцитов и натуральных киллеров выявлялось реже: у 26% и 15% больных, соответственно.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, синдром Ди-Джорджи, хромосомные аномалии, Т-лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210007261-2

Адрес: 620149 Екатеринбург, ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Пашнина Ирина Александровна.

Тел.: 8(343) 272-91-39; E-mail: irina_pashnina@list.ru

Авторы:

Пашнина И. А., д.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия;

Власова Е. В., к.м.н., заведующая отделением клинической иммунологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия;

Дерябина С. С., к.б.н., заведующая лабораторией молекулярной диагностики ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка», Екатеринбург, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром Ди-Джорджи является первичным иммунодефицитом из группы САТСН 22. Синдромы САТСН 22 (Cardiac defects, Abnormal facies, Thymic hypoplasia, Cleft palate, Hypocalcemia, $del 22$) – заболевания, связанные с хромосомными аномалиями, затрагивающими 22 хромосому, и проявляющиеся врожденными пороками развития. Наиболее часто при этих заболеваниях на-

блюдается делеция района $q11.2$ длинного плеча 22 хромосомы, возможны транслокации между участками 21 и 22 хромосом, транслокации 22p на 22q [1]. Фенотип синдрома Ди Джорджи также выявляется у больных с делецией 10p13-14, алкогольной и других фетопатиях. Частота САТСН-синдромов составляет 1:3000–6000 [2]. Помимо синдрома Ди Джорджи, в группу САТСН входят: синдром конотрункальных и лицевых аномалий и велокардиофациальный синдром. При конотрункальном и велокардиофациальном синдромах иммунологические нарушения отсутствуют или слабо выражены [1].

Клиническими проявлениями синдрома Ди-Джорджи являются: пороки сердца и крупных сосудов, гипоплазия парашитовидных желез, дефицит паратгормона, гипокальциемия, судороги, аплазия и гипоплазия тимуса, иммунологические нарушения, дефицит СТГ, аномалии лицевого скелета, строения гортани, глотки, трахеи, внутреннего уха, пищевода, зубов, пороки развития почек, аномалии ЖКТ и ЦНС,

задержка речевого и моторного развития, синдром гиперактивности, шизофрения [3, 4, 5].

При синдроме Ди-Джорджи иммунологические дефекты варьируют от полной аплазии тимуса с тяжелым инфекционным синдромом до практически нормальной функции иммунной системы. При наличии выраженного Т-клеточного дефицита возможны аутоиммунные и онкологические заболевания. При вовлечении иммунной системы чаще наблюдается снижение количества Т-лимфоцитов и их пролиферативной активности. Количество В-лимфоцитов и натуральных киллеров обычно в норме. Концентрация сывороточных Ig чаще нормальная, но у некоторых больных наблюдается селективный дефицит IgA, гипо- или агаммаглобулинемия [1].

Целью настоящей работы явилось клиническое, молекулярно-биологическое и иммунологическое обследование группы пациентов с синдромом Ди-Джорджи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 37 пациентов с синдромом Ди Джорджи в возрасте от 1 мес. до 36 лет. Все пациенты наблюдаются в отделении клинической иммунологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» (ОДКБ). Проводился сбор анамнеза, в том числе – семейного, осмотр пациентов.

Молекулярно-генетические исследования проводили в лаборатории молекулярной диагностики ГБУЗ СО Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка». Геномную ДНК из сухих пятен крови и образцов цельной крови выделяли автоматическим методом на станции MagNa Pure LC2.0 (Roche, США). В работе использовали коммерческий набор MagNa Pure LC DNA Isolation Kit I (Roche, США) и протокол выделения DNA I Blood Cells High Performance protocol. Объем образцов для экстракции ДНК составил 200 мкл цельной крови, взятой в вакуумные пробирки (Sarstedt, Германия) с K3-ЭДТА или 2 стандартных сухих пятна крови с фильтровальной карточки, которые выбивались в пробирку «Эппендорф» ручным пробойником. Анализ критического участка 22q11 хромосомы 22 у детей с подозрением на синдром Ди Джорджи проводили методом мультиплексной лигазной амплификации проб (MLPA). Использован коммерческий набор SALSA MLPA probemix P250-B2 DiGeorge (MRC-Holland, The Netherlands), который содержит 48 различных MLPA-зондов, 29 из кото-

рых локализованы в хромосомном районе 22q11. Анализ образцов проводили согласно инструкции фирмы-производителя (MRC-Holland) на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 (США). Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Coffalyser (MRC-Holland).

Иммунологическое обследование проводилось в клиничко-диагностической лаборатории ОДКБ. Кровь забирали в вакуумные пробирки (Sarstedt, Германия) с гепарином. Методом проточной цитометрии на проточном цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США) подсчитывали общее количество Т-лимфоцитов (CD3⁺), количество Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т-клеток (CD3⁺CD8⁺), натуральных киллеров (CD3⁻CD16/56⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺). Подсчет абсолютного количества клеток проводился с применением счетных частиц Flow-Count (Beckman Coulter, США). Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Navios Software (Beckman Coulter, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В отделении клинической иммунологии ОДКБ наблюдается 37 пациентов с синдромом Ди Джорджи, из них 34 ребенка и 3 взрослых. У большинства детей – 18 человек, диагноз был поставлен в возрасте до 6 мес., у 11 детей – в возрасте с 2 до 7 лет, у 8 пациентов – в возрасте 9–16 лет, взрослые являются родителями наших детей и были обследованы в возрасте 27–33 года (2 женщины, 1 мужчина). Нами наблюдаются три семьи, при этом в двух из них по два ребенка с синдромом Ди Джорджи. У всех взрослых определялись фенотипические признаки синдрома Ди Джорджи, но только у мужчины диагностирован врожденный порок сердца.

При молекулярно-генетическом обследовании у 33 из 34 пациентов детского возраста была выявлена микроделеция del22q11.2 (**Таб. 1**). Еще в одном случае диагноз был основан на совокупности фенотипических проявлений и пороков развития: врожденный порок сердца, расщелина твердого неба и трудности в обучении. Возраст выявления микроделеции del22q11.2 у детей варьировал от 0,5 мес до 15 лет, медиана возраста составила 29,5 месяцев. В исследовании встречались пациенты, которым правильный диагноз был установлен еще до рождения (семья отказалась от пренатальной диагности-

ки), или только через несколько лет после проведенного генетического исследования (отказ от взаимодействия с врачами). При проведении генетического исследования у родителей пациентов с del22q11.2 (n=13, 7 семей) у 3 взрослых обнаружены делеции в области региона Ди Джорджи, идентичные делеции, выявленной у их детей.

У 30 обследованных детей диагностирован врожденный порок сердца (**Таб. 1**), преимущественно: перерыв дуги аорты, тетрада Фалло, дефект межжелудочковой перегородки, дефект межпредсердной перегородки, у 22 детей проведены корректирующие операции. У 4 детей пороки сердца и сосудов не выявлены. Сочетание врожденного порока сердца с другими пороками диагностировано у 12 детей (**Таб. 1**). В большинстве случаев (5 детей), – это пороки опорно-двигательного аппарата в виде врожденной косолапости, серповидной деформации стоп, синдактилии. Пороки развития почек в виде гипоплазии и дистопии почек, гипоспадии выявлены у 4 пациентов, порок развития головного мозга – у 1 ребенка, трахеомалация главного бронха – у 1 пациента.

У всех детей отмечался лицевой дисморфизм (**Таб. 1**) – монголоидный разрез глаз, широкая переносица, низкопосаженные уши, микрогнатия. Поражение носоглоточного аппарата выявлено у 13 больных, из них расщелины твердого и мягкого неба у 7 человек, тугоухость у 6 детей. У детей младшего возраста в большей степени была выражена задержка физического и речевого развития.

У всех детей были выявлены признаки нарушения противоинфекционной защиты (**Таб. 1**): наблюдались острые и хронические процессы вирусно-бактериальной этиологии различной локализации. Генерализованные бактериальные инфекции были характерны для детей раннего возраста в послеоперационном периоде коррекции врожденного порока сердца, при этом требовалось назначение антибактериальной, противогрибковой и иммуностропной терапии. У детей до 3-х лет ведущее место в структуре заболеваемости занимали заболевания респираторного тракта в виде повторных пневмоний, рецидивирующих бронхитов, риносинуситов. Дети школьного возраста болели редкими респираторными вирусными инфекциями, как

Таблица 1. Клинико-диагностические параметры у детей с синдромом Ди Джорджи (n=34)

Исследованный параметр	Количество детей с данным признаком	%
Наличие врожденного порока сердца	30	88
Сочетание врожденного порока сердца с другими пороками	12	35
Лицевой дисморфизм	34	100
Поражение носоглоточного аппарата	13	38
Нарушения противоинфекционной защиты	34	100
Гипокальциемия	9	26
Летальный исход	4	12
Наличие микроделеции del22q11.2	33	97
Снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов (CD3 ⁺) по сравнению с возрастной нормой [11]	23	68
Снижение абсолютного количества Т-хелперов (CD3 ⁺ CD4 ⁺) по сравнению с возрастной нормой [11]	22	65
Снижение абсолютного количества цитотоксических Т-клеток (CD3 ⁺ CD8 ⁺) по сравнению с возрастной нормой [11]	20	59
Снижение абсолютного количества натуральных киллеров (CD3 ⁻ CD16/56 ⁺) по сравнению с возрастной нормой [11]	5	15
Снижение абсолютного количества В-лимфоцитов (CD19 ⁺) по сравнению с возрастной нормой [11]	9	26

правило, не требовавшими назначения антибактериальной терапии. Гипокальциемия диагностирована у 9 детей (Таб. 1), при этом судороги отмечались у 3 детей. Летальные исходы констатированы у 4 детей: у 3 детей в раннем возрасте от генерализованного инфекционного процесса, у 1 ребенка – от гипокальциемического криза.

При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, снижение абсолютного количества Т-клеток, Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток наблюдалось у двух третей обследованной группы детей (Таб. 1). Снижение количества В-лимфоцитов и натуральных киллеров выявлялось реже: лишь у 20% и 15% больных, соответственно. При этом, наибольшее число нарушений численности субпопуляций лимфоцитов зафиксировано у детей в возрасте до 1 года.

ОБСУЖДЕНИЕ

В целом, можно отметить, что у всех обследованных нами пациентов клинические проявления заболевания укладывались в классический симптомокомплекс синдрома Ди Джорджи [3, 4, 5]. Наиболее частыми признаками были лицевой дисморфизм и нарушения противoinфекционной защиты, которые наблюдались у всех пациентов детского возраста. Один из обследованных детей не имел делеции 22q11.2, однако фенотип синдрома Ди Джорджи могут иметь больные с делециями 10p13, 18q21.33, 4q21.3-q25 [6].

У подавляющего большинства обследованных нами детей выявлены врожденные пороки сердца. Считается, что данная патология является основной причиной смертности при синдромах делеции 22q11.2 [7]. Однако, среди детей в наблюдаемой нами группе в качестве причин летальности выступили инфекционный синдром и электролитные нарушения. При этом, более двух третей детей с пороками сердца были прооперированы. Это свидетельствует о своевременной диагностике и коррекции данной патологии.

У детей младшего возраста в обследованной нами группе более ярко проявлялась задержка физического и речевого развития, чем у более старших детей. Когнитивные нарушения, задержка психического развития и, как следствие, трудности в обучении часто определяются у детей школьного возраста с синдромом Ди Джорджи [8, 9].

Для синдрома Ди Джорджи характерно снижение как общего количества Т-лимфоцитов,

так и их субпопуляций: Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток, в большей степени эти изменения затрагивают наивные лимфоциты [10]. У двух третей обследованной нами группы наблюдалось снижение численности вышеперечисленных клеток по сравнению с возрастной нормой [11]. Считается, что у больных с редуцированным количеством Т-лимфоцитов и Т-хелперов повышен риск развития аутоиммунных заболеваний [12]. Однако у обследованных нами пациентов аутоиммунные проявления отсутствовали. Количество В-лимфоцитов было снижено только у четверти больных, натуральных киллеров – у 15% пациентов. Политературным данным, численность последних двух популяций при синдроме Ди Джорджи чаще сохраняется в пределах возрастных нормативных значений [1].

Таким образом, учитывая широкую гетерогенность наблюдаемых клинических проявлений синдрома Ди Джорджи, представляется важным дальнейшее накопление знаний о данном заболевании, с целью его более раннего распознавания у пациентов с «мягким» фенотипом. При этом возрастает роль сбора семейного анамнеза и своевременного проведения молекулярно-генетической верификации, а также раннего назначения терапии для существенного улучшения качества жизни и социальной адаптации пациентов с синдромом Ди Джорджи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Иммунология детского возраста: практическое руководство по детским болезням, под ред. А. Ю. Щербины, Е. Д. Пашанова. Москва: Медпрактика-М. 2006. 432 с. [Immunology of childhood: practical guideline in children's diseases. Ed. Stcherbina A. Yu., Pashanov E. D. Moscow: Medpraktika-M. 2006. 432 p.]
2. Bassett A. S., McDonald-McGinn D. M., Devriendt K., Digilio M. C., Goldenberg P., Habel A., Marino B., Os-karsdottir S., Philip N., Sullivan K., Swillen A., Vorstman J. International 22q11.2 Deletion Syndrome Consortium. Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. J Pediatr. 2011, 159(2):332–9.e1.
3. Кондратенко И. В., Бологов А. А. Первичные иммунодефициты. М.: Медпрактика-М. 2005. 321 с. [Kondratenko I. V., Bologov A. A. Primary immunodeficiency. Moscow: Medpraktika-M. 2005. 321 p.]
4. Румянцев А. Г., Масчан А. А. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению синдрома делеции 22-й хромосомы. М. 2014. 12с. [Rumyantsev A. G., Maschan A. A. Federal clinical recommendations on diagnostics and treatment of the syndrome of 22 chromosome deletion. Moscow. 2014. 12 p.]

5. Sgardioli I. C., Paoli Monteiro F., Fanti P., Paiva Vieira T., Gil-da-Silva-Lopes V. L. Testing criteria for 22q11.2 deletion syndrome: preliminary results of a low cost strategy for public health. *Orphanet J Rare Dis.* 2019, 14(1):123.
6. Швец О. В., Продеус А. П., Щербина А. Ю. Синдром делеции DEL 22q11.2 (синдром ДиДжорджи): клинические и иммунологические аспекты патологии. *Российский иммунологический журнал.* 2011, 5(14), 2, 101–111. [Shvets O. V., Prodeus A. P., Shcherbina A. Yu. Clinical and immunological aspects of DEL 22q11.2 syndrome (DiGeorge syndrome). *Russian Journal of Immunology.* 2011. 5(14), 2, 101–111.]
7. Намазова-Баранова Л. С., Гинтер О. В., Полунина Т. А., Давыдова И. В., Савостьянов К. В., Пушков А. А., Журкова Н. В., Мосьпан Т. Я. Синдром делеции 22q11.2: симптомы, диагностика, лечение. *Вопросы современной педиатрии.* 2016; 15 (6): 590–595. [Namazova-Baranova L. S., Ginter O. V., Polunin T. A., Davydova I. V., Savostyanov K. V., Pushkov A. A., Zhurkova N. V., Mospan T. Ya. Deletion syndrome 22q11.2: symptoms, diagnostics, treatment. *Questions of modern pediatrics.* 2016; 15 (6): 590–595.]
8. Jonas R. K., Montojo C. A., Bearden C. E. The 22q11.2 Deletion Syndrome as a Window Into Complex Neuropsychiatric Disorders Over the Lifespan. *Biol Psychiatry.* 2014, 75 (5), 351–360.
9. Genes D. G., Schaer M., Eliez S. Brain Development and Psychiatric Phenotypes in Velo-Cardio-Facial Syndrome. *Dev. Disabil. Res. Rev.* 2008, 14 (1), 59–68.
10. Klocperk A., Paračková Z., Bloomfield M., Rataj M., Pokorný J., Unger S., Warnatz K., Šedivá A. Follicular Helper T Cells in DiGeorge Syndrome. *Front Immunol.* 2018, 9:1730.
11. Tosato F., Bucciol G., Pantano G. Lymphocytes Subsets Reference Values in Childhood. *Cytometry Part A.* 2015, 87A, 81–85.
12. Giardino G., Radwan N., Koletsi P., Morrogh D. M., Adams S., Ip W., Worth A., Jones A., Meyer-Parsonson I., Gaspar H. B., Gilmour K., Davies E. G., Ladomenou F. Clinical and immunological features in a cohort of patients with partial DiGeorge syndrome followed at a single centre. *Blood.* 2019, pii: blood.2018885244.

CLINICAL-LABORATORY CHARACTERISTIC OF PATIENTS WITH SYNDROME DIGEORGE

© 2019 I. A. Pashnina^{1*}, E. V. Vlasova¹, S. S. Deryabina²

*E-mail: irina_pashnina@list.ru

¹Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia;

²Medical Center "Health Care of Mother and Child", Yekaterinburg, Russia

Received: 21.05.2019. **Accepted:** 27.06.2019

Cases of children (n=34) and adults (n=3) with DiGeorge syndrome were investigated. In 33 of 34 children 22q11.2 deletion was revealed. In 30 children a cardiac malformation was diagnosed, in 12 cases – in combination with other congenital malformations, all children had face dysmorphisms. Young children had more severe physical and speech development delay. All children showed signs of anti-infectious protection disorders: acute and chronic viral and bacterial infections of different localization. Lethal outcomes were observed in four children: three of them – because of sepsis, one – because of hypocalcemic crisis. The decreased level of the T-cells, T-helpers and cytotoxic T-cells absolute count in peripheral blood was observed in 59–68% of children. The decreased count of B-lymphocytes and natural killers was detected less frequently: in 26% and 15% of patients, respectively.

Key words: primary immunodeficiency, syndrome DiGeorge, chromosomal anomalies, T-lymphocytes

Authors:

Pashnina I. A., ☒ PhD, Head of clinical diagnostics laboratory of Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia. Yekaterinburg, Regional Children's Clinical Hospital. Phone: +79226004686, **E-mail:** irina_pashnina@list.ru;

Vlasova E. V., PhD, Head of clinic immunology office of Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia;

Deryabina S. S., PhD, Head of laboratory of molecular diagnostics of Medical Center "Health Care of Mother and Child", Yekaterinburg, Russia.