

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(21)

2019 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 12.04.19
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 110 экз.
Усл. печ. л. 20,5. Уч.-изд. л. 11,8.
Зак. 20.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора),
В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор),
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Велякин (к.б.н., доцент),
А.В. Воропаева (к.м.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.),
В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь),
А.В. Жарикова (к.м.н.), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор),
И.Н. Коляда (к.м.н.), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент),
А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент),
С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Я.Л. Навменова (к.м.н.),
Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор),
Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.),
А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент),
И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент),
А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор),
А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент),

Редакционный совет

В.И. Жарко (Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск),
О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск),
С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),
Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва),
Е.Л. Богдан (МЗ РБ, Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва),
А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва),
М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),
Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва),
К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург),
Н.Г. Кручинский (д.м.н., Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск),
Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),
Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск),
В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск),
В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2019

№ 1(21)

2019

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Редакторская колонка

- А.В. Рожко, Е.Л. Богдан**
 ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» в системе минимизации медицинских последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС 6

Обзоры и проблемные статьи

- Е.М. Бредихин, А.В. Величко**
 Субклинический синдром Кушинга. Современные подходы к диагностике и лечению 11
- Г.Н. Фильченков, Е.Г. Попов, И.А. Чешик, Е.Ф. Конопля**
 Физиология стероид-транспортных белков крови в процессе старения (обзор) 21

Медико-биологические проблемы

- О.Н. Антипенко**
 Эффективность нового ферроцианид-содержащего сорбента 30
- К.Н. Буздалькин**
 Метод оперативной оценки доз облучения персонала, ожидаемых в результате ингаляции радионуклидов при тушении пожаров 36
- Н.Г. Власова**
 Радиационные аварии 43
- Е.А. Дрозд, Н.Г. Власова**
 Метод индивидуализации дозы внутреннего облучения населения, проживающего на загрязненной территории, при недостатке или отсутствии данных СИЧ-измерений 51
- Д.В. Кононенко, Т.А. Кормановская**
 Оценка риска для здоровья населения субъектов Российской Федерации при равномерном пожизненном облучении радоном 56

Editorial column

- A.V. Rozko, E.L. Bogdan**
 SI «The republican research center for radiation medicine and human ecology» in a system of minimizing the consequences of the chernobyl accident

Reviews and problem articles

- E.M. Bredihin, A.V. Velichko**
 Subclinical Cushing syndrome. Modern approaches to diagnosis and treatment
- G.N. Filchenkov, E.H. Popoff, I.A. Cheshyk, E.F. Konoplya**
 Physiology of steroid-specific transport proteins during aging (review)

Medical-biological problems

- O.N. Antipenko**
 The efficacy of the new ferrocyanide-containing sorbent
- K.N. Bouzdalkin**
 A method for rapid assessment of radiation exposure of personnel is expected as a result of the inhalation of radionuclides in case of fighting fires
- N.G. Vlasova**
 The radiation accidents
- E.A. Drozd, N.G. Vlasova**
 A method of internal dose individualization to population living on a contaminated territory in the absence of data from WB-measurements
- D.V. Kononenko, T.A. Kormanovskaya**
 Risk assessment for the population of the regions of the Russian Federation from constant lifelong exposure to radon

- Т.А. Кормановская, Н.А. Королева, Е.С. Кокоулина, Т.А. Балабина**
Природное облучение работников неураниевых отраслей промышленности в Российской Федерации 62
- Е.Ф. Мицура, Л.И. Волкова**
Значение гематологических показателей в диагностике наследственного сфероцитоза у детей первого года жизни 68
- И.В. Орадовская, Т.Т. Радзивил**
Мониторинг иммунного статуса персонала Сибирского химического комбината при наличии хронических заболеваний. Зависимость от возраста, сроков контакта с факторами профвредности и дозы облучения 73
- И. М. Хмара, Н.А. Васильева, Н.С. Корытко**
Композиция тела у женщин с нормальной и избыточной массой тела в различные периоды репродуктивного здоровья 86

Клиническая медицина

- В.В. Зарецкий, С.А. Игумнов, Н.В. Коренский, Ю.В. Блыш**
Био-психо-социальные особенности отклоняющегося поведения у подростков, характеризующихся сочетанным употреблением психоактивных веществ 98
- М.В. Белевцев, М.Г. Шитикова, И.Е. Гурьянова, С.О. Шарапова, Ю.С. Жаранкова, А.С. Купчинская, С.Н. Алешкевич, А.П. Саливончик, И.С. Сакович, Е.А. Полякова, Т.А. Углова, О.В. Алейникова**
Иммунологические и генетические особенности общей варибельной иммунной недостаточности (ОВИН) у детей и взрослых в Республике Беларусь 104
- Е.В. Власова-Розанская**
Медицинская реабилитация пациентов с системной красной волчанкой 112
- Ж.М. Козич, В.Н. Мартинков, Ж.Н. Пугачева, А.А. Ковалевич, Л.А. Смирнова**
Иммунофенотипические маркеры CD56, CD117, CD33, CD20 и их роль при моноклональной гаммапатии неопределенного генеза и множественной миеломе у пациентов гомельского региона 117

Clinical medicine

- T.A. Kormanovskaya, N.A. Koroleva, E.S. Kokoulina, T.A. Balabina**
Natural exposure of the workers of the non-uranium branches of industry in the Russian Federation
- E.F. Mitsura, L.I. Volkova**
The importance of hematological indicators in the diagnostics of hereditary spherocytosis in children of the first year of life
- I.V. Oradovskaya, T.T. Radzivil**
Monitoring of the immune status of personnel of Siberian chemical plant in the presence of chronic diseases. Dependence on age, terms of contact with factors of professional harm and dose of radiation
- I.M. Khmara, N.A. Vasilyeva, N.S. Korytko**
Body composition in women with different weight during different periods of reproductive health

- V.V. Zaretsky, S.A. Igumnov, N.V. Karenski, Y.V. Blysh**
The bio-psycho-social features of the adolescents with deviant behavior who using combined psychoactive substances
- M. Belevtsev, M. Shytikova, I. Gurianova, S. Sharapova, J. Zharankova, A. Kupchinskaja, S. Aleshkevich, A. Salivonchik, I. Sakovich, E. Poliarova, T. Uglova, O. Aleinikova**
Immunological and genetic features of common variable immune deficiency (CVID) in children and adults in the Republic of Belarus
- E.V. Vlasova-Rozanskaya**
Medical rehabilitation of patients with systemic lupus erthematosus
- Z.M. Kozich, V.N. Martinkov, Z.N. Pugacheva, A.A. Kavalevich, L.A. Smirnova**
Significance of the expression of tumor antigens CD56, CD117, CD33, CD20 as prognostic factors in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma

- С.А. Лихачев, Н.Н. Усова, А.Н. Цуканов, Д.А. Голубова, А.А. Мельников**
Объективизация хронического болевого синдрома у пациентов с сахарным диабетом 124
- Ya. Navmenova, I. Savasteeva, M. Rusalenko, E. Mahlina, N. Holupko, T. Gavrylenko**
Assessment of possible risk factors for the development of anxiety disorders in patients with diabetes mellitus type I 131
- Е.В. Родина, Н.И. Корженевская, Д.П. Саливончик, Д.И. Гавриленко**
Роль предикторов электрической нестабильности миокарда предсердий в ранней диагностике пароксизмальной фибрилляции предсердий и их связь со структурно-функциональными изменениями сердца 138
- А.Е. Силин, Д.К. Новик, В.Н. Мартинков, И.Н. Козарь, В.В. Кошкевич, А.В. Воропаева, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, С.М. Мартыненко**
Молекулярно-генетическая и клинико-лабораторная характеристики пациентов с идиопатическим миелофиброзом 144
- С.А. Ходулева, И.П. Ромашевская, А.Н. Демиденко, Е.Ф. Мицура**
Клиническая манифестация иммунной тромбоцитопении у детей 150

Обмен опытом**Experience exchange**

- С.А. Иванов, В.А. Кривенчук, Д.Д. Редько, И.Д. Шляга, В.С. Волчек**
Реконструкция крыла носа носогубным лоскутом и модифицированным пазл-лоскутом: сравнительная характеристика косметических результатов 156
- S.A. Ivanou, V.A. Krivenchuk, D.D. Radzko, I.D. Shlyaga, V.S. Volchek**
Nasal ala reconstruction with nasolabial flap and with modified «puzzle» flap: comparative study of cosmetic outcomes

УДК 612.017.1:616-008.64:575.224.22(476)

М.В. Белевцев¹, М.Г. Шитикова^{1,2},
И.Е. Гурьянова¹, С.О. Шарапова¹,
Ю.С. Жаранкова¹, А.С. Купчинская¹,
С.Н. Алешкевич¹, А.П. Саливончик²,
И.С. Сакович¹, Е.А. Полякова¹,
Т.А. Углова¹, О.В. Алейникова¹

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОБЩЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ОВИН) У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

¹Центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, г. Минск, Беларусь

²ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

В Республике Беларусь выявляемость пациентов с ОВИН ниже, чем в среднем по Европе, и составляет 1:340 000 жителей. При анализе клинико-иммунологических показателей 28 детей и взрослых нами были выявлены практически у всех инфекционные заболевания, чаще верхних и нижних дыхательных путей, и аутоиммунные осложнения (процессы) у 20% пациентов с ОВИН. У пациентов ОВИН имеется статистически значимое снижение числа В-клеток памяти и повышение абсолютного содержания наивных Т-лимфоцитов с фенотипом CD8+CD45RA+, а так же в группе ОВИН наблюдается значимое снижение формирования Т-лимфоцитов с фенотипом CD45RO+. Практически у всех пациентов с аутоиммунными проявлениями при ОВИН наблюдалась экспансия потенциально «аутореактивных CD19+CD27-IgD+IgMlow/-» В-лимфоцитов в периферической крови. У 22% пациентов выявлены мутации в гене TAC1, что характерно для ОВИН.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, общая переменная иммунная недостаточность, субпопуляции лимфоцитов, мутации в генах

Введение

Общая переменная иммунная недостаточность (ОВИН) – это гетерогенная группа заболеваний, связанных с нарушением продукции защитных антител, которые проявляются рецидивирующими инфекциями, зачастую бактериальными, и манифестируют после 3-х лет жизни. Общей характеристикой ОВИН является дефект Т- и В-клеточного звена иммунитета, приводящий к нарушенной способности продуцировать специфические антитела после вакцинации или перенесенных инфекционных эпизодов, со значительным снижением содержания полиспецифических IgG, IgA и часто IgM, при исключении других причин, вызывающих недостаточность антител. Из наиболее частых причин вторичной гипоглобулинемии

выделяют действие лекарственных препаратов, наличие миеломы, лимфомы, потеря иммуноглобулинов с мочой (не гипо-IgM-синдром) или через желудочно-кишечный тракт или кожу.

У пациентов с ОВИН нарушено пост-антигенное развитие В-лимфоцитов, что проявляется сниженным уровнем изотип-переключенных В-клеток памяти, увеличением незрелых В-лимфоцитов, нарушением переключения классов иммуноглобулинов и дифференцировки В-лимфоцитов в плазмочиты. Результатом вышеописанных изменений является нарушение синтеза антиген-специфических антител.

ОВИН имеет два пика манифестации: первый в детском возрасте (между 5-10 годами), а второй – во взрослом (между 20-30 годами). Наиболее частыми клиническими

проявлениями являются рецидивирующие инфекции респираторного тракта (средние отиты, синуситы, бронхиты, пневмонии), поражения гастроинтестинального тракта (могут быть осложнены гранулематозными заболеваниями), аутоиммунные заболевания, лимфопролиферативные осложнения и злокачественные новообразования. Данные заболевания могут приводить к снижению качества жизни пациентов, увеличению времени нетрудоспособности и инвалидизации пациентов, что характеризует ОВИН как социальную проблему.

Частота встречаемости от 1:10 000 до 1:100 000 населения. По данным Европейского Регистра средняя встречаемость ОВИН составляет 1:50 000, таким образом согласно математическим расчетам в Республике Беларусь должно быть не менее 200 пациентов с ОВИН. На данное время можно говорить о примерной встречаемости 1:200 000 населения. Соответственно, имеется необходимость разработки и внедрения комплекса высокотехнологической диагностической, лечебной и реабилитационной помощи детям и взрослым с ОВИН в Республике Беларусь.

Большинство пациентов регистрируются как спорадические случаи. Имеются данные о семейных случаях с различными типами наследования, включая аутосомно-доминантное с различной пенетрантностью, аутосомно-рецессивное и X-связанное. Болеют лица как женского, так и мужского пола. Описано шесть генетических дефектов, лежащих в основе ОВИН, проявляющихся не более чем в 15% случаев всех ОВИН:

- дефицит ICOS (Inducible CoStimulator, хромосома 2q33, аутосомно – рецессивный тип наследования (АР)) приводит к нарушению передачи сигнала с активированных Т-лимфоцитов, необходимых для дифференцировки В-лимфоцитов; у части пациентов с ОВИН выявляется выраженный дисбаланс субпопуляций (наивных и клеток памяти) Т – кле-

ток. Отмечается увеличение числа Т-клеток памяти, причем как для Т-хелперных клеток, так и для цитотоксических клеток. Нами выявлено у части пациентов снижение содержания Т-регуляторных клеток, что может являться причиной дисбаланса субпопуляций Т-лимфоцитов;

- дефект CD19 (хромосома 16p11.2, АР) приводит к нарушению передачи сигнала через В-клеточный рецептор для дифференцировки В-клеток;
- дефицит TAC1 (Transmembrane Activator and Calcium modulator and cyclophilin ligand Interactor, семейство TNF рецепторов, хромосома 17p11.2, АР или АД) приводит к нарушению переключения синтеза классов иммуноглобулинов (LRBA);
- дефицит BAFF-R (B cell Activation Factor, семейство TNF рецепторов, хромосома 22q13.1-3.3, АР) приводит к нарушению дифференцировки В-лимфоцитов;
- дефект CD81 (трансмембранный протеин, АР) приводит к нарушению передачи сигнала с В-клеточного рецептора;
- дефект CD20 (АР), CD21 приводит к нарушению дифференцировки В-лимфоцитов в плазмочиты.

По последней классификации 2017 года IUIS EC (the International Union of Immunological Societies PID Expert Committee) к группе т.н. ОВИН-Like добавляют отдельные заболевания, связанные с гипоглобулинемией с количеством В-лимфоцитов более 1% в периферической крови. Были добавлены следующие фенотипы, обусловленные определенными мутациями с особенностями клинического течения: PIK3CD мутация (GOF), Mannosyl-oligosaccharide glucosidase deficiency (MOGS), недостаточность PIK3R1 (LOF), PTEN (LOF), TWEAK, TTC37, IRF2BP2, CD21, TRNT1, NFKB1, NFKB2, IKAROS, ATR6AP1 и фенотип без идентифицированного генетического дефекта.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 28 пациентов из них 16 пациентов в возрасте от 4 до 18 лет и 12 пациентов в возрасте старше 18 лет. В работе использовали иммунологические данные 84 условно здоровых людей в возрасте от 4 лет до 45 лет.

Для проведения научных и клинических исследований от родителей всех пациентов и здоровых доноров (опекунов) было получено информированное согласие. Исследование было одобрено комитетом по этике Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Определение концентрации иммуноглобулинов М, G, А в сыворотке крови проводились иммунотурбидиметрическим методом на анализаторе Hitachi 912 с использованием оригинальных диагностических тест-систем, включающих калибровочные и контрольные материалы. У всех пациентов отмечалось резкое снижение концентрации иммуноглобулинов в периферической крови в различных вариациях, что является одним из патогномоничных признаков ОВИН.

Стандартное иммунологическое исследование клеточного звена иммунитета проводилось методом многоцветного иммунофенотипирования на проточном цитофлюориметре Navios (фирмы Beckman Coulter) по безотмывочной технологии пробоподготовки. Материалом исследования являлась периферическая кровь, полученная путем венопункции в пробирки с антикоагулянтом.

Иммунологическое обследование включало показатели стандартной иммунограммы с определением клеток с иммунофенотипами: Т-лимфоциты (CD3+), Т-хелперы (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+), В-лимфоциты (CD19+), натуральные киллеры (CD3-CD16+CD56+), активированные Т-лимфоциты (CD3+Anti-HLADR+).

А также дополнительные иммунофенотипические маркеры с учетом патогенеза ОВИН: тимические мигранты (CD3+CD4+CD31+CD45RA+), наивные

Т-хелперы (CD3+CD4+CD45RA+), Т-хелперы памяти (CD3+CD4+CD45RO+), наивные CD8+ Т-лимфоциты (CD3+CD8+CD45RA+), CD8+ памяти (CD3+CD8+CD45RO+), регуляторные Т-лимфоциты (CD4+CD25+CD127-), дважды негативные Т-лимфоциты (CD3+CD4-CD8-TCRαβ+), IgD-переключенные В-лимфоциты памяти (CD19+CD27+IgD-), IgD-непереключенные В-лимфоциты памяти или В-лимфоциты маргинальной зоны (CD19+CD27+IgD+), наивные IgD+ В-лимфоциты (CD19+CD27-IgD+), IgM-переключенные В-лимфоциты памяти (CD19+CD27+IgM-), IgM-непереключенные В-лимфоциты памяти или В-лимфоциты маргинальной зоны (CD19+CD27+IgM+), наивные IgM+ В-лимфоциты (CD19+CD27-IgM+), функционально-незрелые В-лимфоциты (CD19+CD21-, CD19+CD21-CD38-, CD19+CD21-CD38++), регуляторные В-лимфоциты (CD20+CD5+, CD19+CD24++CD38++, CD19+CD38++IgM++).

Обработка полученных данных осуществлялась в пакете прикладных программ CXP.analysis software, Kaluza Flow Cytometry Analysis v1.2 (Beckman Coulter).

Для верификации ПИД необходимым условием является исследование генотипа на предмет установления конкретной мутации в определенном гене. Проводился мутационный анализ генов, лежащих в основе ОВИН, методом секвенирования «следующего» поколения. Производилось поэтапное выделение ДНК из суспензии клеток: с лизисом клеток, экстракцией фенолхлороформной смесью (в соотношении 25:24:1 соответственно, рН=7,5-8,5), высаливанием белка, осаждением и отмывкой ДНК. Проводился подбор праймеров и условий амплификации. Для каждой пары праймеров была оптимизирована температура отжига. ПЦР реакции проводились в стандартных условиях. Пробоподготовка образцов для секвенирования включала в себя измерение концентрации образцов на Qubit с последующим разведением водой до концентрации 0,2 нг/мкл. Работа

с образцами и PhiXControl («библиотеки») проводилась согласно протоколу Illumina на секвенаторе MiSeq. Полученная информация анализировалась в облаке программы Galaxy. Полученную из прибора последовательность нуклеотидов сравнивали по 38 сборке. При обнаружении значимой мутации данный экзон в дальнейшем подвергался протоколу действий для прямого капиллярного секвенирования для подтверждения полученного результата.

Были исследованы гены: TAC1, BAFFR (TNFRSF13C), CTLA4 (CD152), CD19, CD20 (MS4A1), CD81, ICOS.

Постановка окончательного диагноза происходила по результатам, полученным при иммунологических исследованиях, и выявленным генетическим нарушениям.

Полученные данные анализировали методами вариационной непараметрической статистики с использованием программы STATISTICA 7.0. Достоверность различий между исследуемыми группами по количественным показателям оценивали по критерию Манн-Уитни U-тест. Дополнительно определяли значения средних арифметических значений и их ошибки, а также значение медианы и диапазон минимальных и максимальных значений.

Результаты исследования

При анализе результатов верификации данных пациентов с выявленным диагнозом ОВИН с 2002 по 2017 года можно говорить о примерной встречаемости 1:340 000 населения. Распределение по выявляемости пациентов в областях Республики Беларусь было следующим: около 60% пациентов с ОВИН верифицированы в г. Минске и Минской области, в Гомельской области около 20%, и в Гродненской, Брестской, Могилевской и Витебской пациенты выявлялись эпизодически. У всех 28 детей и взрослых нами были выявлены инфекционные заболевания, чаще верхних и нижних дыхательных путей, и аутоиммунные осложнения (процессы) у 20% пациентов с ОВИН. Регистрировались случаи трансформации селективного дефицита иммуноглобулина А в ОВИН.

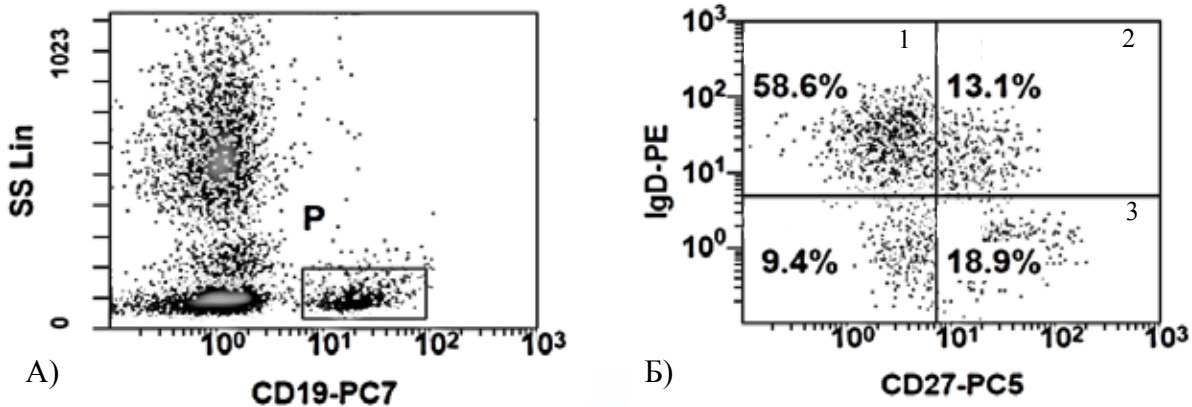
По результатам иммунологического исследования у пациентов с ОВИН относительное и абсолютное содержание Т-, В-лимфоцитов и ЕК клеток достоверно не отличалось от показателей сопоставимой возрастной группы. Было выявлено достоверное снижение уровня иммуноглобулинов G ($p < 0,001$), иммуноглобулина М ($p < 0,05$) и иммуноглобулина А ($p < 0,001$). Так же у большинства пациентов было выявлено резкое снижения титра специфических антител против антигенов групп крови.

В качестве дополнительных диагностических исследований была проведена оценка содержания наивных, В-клеток памяти и функционально незрелых В-лимфоцитов в группе пациентов с ОВИН и контрольной группе (рисунок 1).

В процессе манифестации иммунологической недостаточности происходит резкое снижение числа В-клеток памяти с 8-10% до 0-1%. Статистически данные изменения высоко достоверны ($p < 0,0001$). Следствием снижения числа В-клеток памяти в результате перераспределения субпопуляций В-лимфоцитов происходит повышение числа функционально незрелых В-лимфоцитов. Большинство пациентов с ОВИН имели сниженное относительное содержание В-лимфоцитов памяти, причем всех 4 популяций (IgD+/IgM+ переключенных и маргинальной зоны). У пациентов с ОВИН наблюдалось повышенное содержание иммунорегуляторных клеток с фенотипом CD38++CD24++.

Практически у всех пациентов с аутоиммунными проявлениями при ОВИН наблюдалась экспансия потенциально «аутореактивных» В-лимфоцитов в периферической крови с иммунофенотипом CD19+CD27-IgD+IgMlow/- – поздние переходные клетки, (late transitional cells).

При исследовании субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у пациентов с ОВИН выявлялся выраженный дисбаланс субпопуляций (наивных и клеток – памяти) Т-клеток. Отмечается увеличение числа Т-клеток памяти, причем как для Т-хелперных клеток, так и для цитотокси-



а) Гейтирование В-лимфоцитов по CD19+ и боковому светорассеянию. б) 1- Наивные В-лимфоциты (CD19+CD27-IgD+); 2- Изотип-непереключённые В-лимфоциты памяти/В-лимфоциты маргинальной зоны (CD19+CD27+IgD+); 3-Переключённые В-клетки памяти (CD19+CD27-IgD-).

Рисунок 1 – Иммунофенотипическое определение субпопуляций В-лимфоцитов

ческих клеток, при этом снижается уровень «наивных» Т клеток. Данные изменения могут свидетельствовать, во-первых, о высокой частоте инфекционных эпизодов и формировании устойчивого (большого) пула клеток памяти и, во-вторых, о формировании компенсаторных механизмов в связи с дефектом В-клеток памяти.

Также было выявлено, что у пациентов ОВИН имеется статистически значимое повышение абсолютного содержания наивных Т-лимфоцитов с фенотипом CD8+CD45RA+ по сравнению со здоровыми детьми ($p < 0,001$, $p < 0,01$), что возможно связано с повышенным содержанием CD8+ Т-лимфоцитов.

Статистически значимое снижение относительного содержания тимических мигрантов отмечалось у пациентов ОВИН при сравнении со здоровыми детьми. Абсолютное количество тимических мигрантов у пациентов ОВИН было также значимо ниже ($p < 0,05$), чем у здоровых детей.

Для оценки степени истощения иммунной системы, в частности Т-лимфоцитарного звена, у пациентов с ОВИН мы проанализировали удельный вес тимических мигрантов среди всего пула наивных CD4+CD45RA+ Т-лимфоцитов, который рассчитывался по формуле $\%CD4+CD45RA+CD31+ \times 100\% / \%CD4+CD45RA+$. У пациентов группы ОВИН этот показатель оказался ниже, чем

у здоровых детей ($p < 0,01$). По всей вероятности, снижение уровня тимических мигрантов у пациентов с ОВИН объясняется длительной инфекционной стимуляцией иммунной системы.

Поскольку врожденное нарушение В-лимфоцитов влияет на истощение Т-клеточного звена иммунитета в группе пациентов, то следующим этапом в исследовании пост-тимической дифференцировки Т-лимфоцитов явилось исследование формирования Т-лимфоцитов памяти как маркера эффективности завершеного иммунного ответа. В группе ОВИН наблюдается значимое снижение формирования Т-лимфоцитов с фенотипом CD45RO+ ($p < 0,05$), что согласуется с исследованиями других авторов.

Так же дополнительным критерием оценки иммунологической дисрегуляции является оценка регуляторных Т-лимфоцитов. У пациентов с ОВИН мы исследовали относительное и абсолютное содержание регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом CD4+CD25++CD127-. Значимые отличия были получены только при анализе относительного содержания регуляторных Т-лимфоцитов среди CD4+ Т-хелперов, это снижение в группе ОВИН ($p < 0,01$) по сравнению с данными здоровых детей, что может отчасти являться причиной дисбаланса субпопуляций Т-лимфоцитов.

Молекулярно-биологический анализ генов, лежащих в основе ОВИН, осуществлялся методом высокопроизводительного секвенирования и последующим капиллярным секвенированием клинически значимых замен. Обработка данных секвенирования проводилась с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19), постпроцессинг выравнивания, выявления вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов с применением программы VariantStudio3.0.

В результате молекулярно-генетических исследований для 6 пациентов (2 детей и 4 старше 18 лет) были обнаружены патогенные замены, которые ассоциируют с диагнозом ОВИН. Все замены находились в гене TAC1. В зависимости от выявленной мутации тип наследования определялся как аутосомно-рецессивный или аутосомно-доминантный. У пациента №1 (2007 г.р.) была выявлена гетерозиготная замена с. 310 T>C, p. Cys 104 Arg. Данный вариант встречается в базе данных аллельных вариантов человека согласно ExAC с частотой 0,00321293. Согласно компьютерной программе предсказания патогенности, вариант является патогенным 1,00 (PolyPhen2). Данная замена описана в литературе rs 34557412 и указывается, что для проявления заболевания достаточно гетерозиготы. У пациента №2 (1995 г.р.) был выявлен гетерозиготный компаунд из замен с. 431 C>G, p. Ser 144 X и с. 577 T>C, p. Cys 193 Arg. Данные варианты встречаются в базе данных аллельных вариантов человека согласно ExAC с частотой 0,00003295 и 0,00005780 соответственно. Замена, приводящая к преждевременному стоп-кодону, описана в литературе rs 104894650, данная мутация с аутосомно-рецессивным типом наследования. Поэтому найденный нами гетерозиготный компаунд с наибольшей вероятностью ответственен за проявления заболевания. У пациента №3 (1986 г.р.)

была выявлена гомозиготная замена с. 752 C>T, p. Pro 251 Leu (rs 34562254). У пациента №4 (2000 г.р.) была найдена гетерозиготная замена с. 204-205 ins(dup)A, p. Leu 69 Thr fs Ter 12, которая по данным литературы характерна для заболевания ОВИН. У пациента №5 была обнаружена замена одного нуклеотида в четвертом экзоне в гетерозиготном состоянии с. 605 G>A, приводящая к замене аминокислоты p. Arg 202 His (rs 104894649). Данный вариант встречается в базах данных аллельных вариантов человека всех популяций с частотой 0,039%, европейской популяции с частотой 0,2%. Частота встречаемости данной аллели согласно ExAC 93 из 121020 и гомозигот – 0. Согласно компьютерной программе предсказания патогенности, вариант является возможно патогенным 0,474 (PolyPhen2). Данная замена описана в литературе при гуморальных ИДС, в частности при CVID2. У пациента №6 (1998 г.р.) в третьем экзоне была выявлена гетерозиготная замена с. 260 T>A, p. Ile87Asn. Данный вариант встречается в базе данных аллельных вариантов человека согласно ExAC с частотой 0,0004613. Согласно компьютерной программе предсказания патогенности, вариант является патогенным 0,986 (PolyPhen2). Данная замена описана в литературе как rs 72553877 и указывается, что для проявления заболевания достаточно гетерозиготы.

В своем исследовании мы не выявили ни одного пациента с нарушением в гене ICOS. Мутация в гене TAC1 встречается в 15-20% случаев на Европейской части континента. В нашем исследовании выявлена мутация у 6-ти пациентов, что составляет соответственно 22%. В своем исследовании мы не выявили ни одного пациента с нарушением в гене BAFF-R. В наших исследованиях выявлена гетерозиготная замена у 1 пациента в гене CD19, что составляет 2%. Хотелось бы отметить, что практически у всех пациентов были выявлены полиморфизмы исследованных генов, что требует дополнительного анализа данных.

Заключение

В Республике Беларусь выявляемость пациентов с ОВИН ниже, чем в среднем по Европе, и составляет 1:340 000 жителей. При анализе клинико-иммунологических показателей нами были выявлены аутоиммунные осложнения (процессы) у 20% пациентов с ОВИН. У пациентов ОВИН имеется статистически значимое снижение числа В-клеток памяти и повышение абсолютного содержания наивных Т-лимфоцитов с фенотипом CD8+CD45RA+, а так же в группе ОВИН наблюдается значимое снижение формирования Т-лимфоцитов с фенотипом CD45RO+. Практически у всех пациентов с аутоиммунными проявлениями при ОВИН наблюдалась экспансия потенциально «аутореактивных CD19+CD27-IgD+IgMlow/-» В-лимфоцитов в периферической крови. У 22% пациентов выявлены мутации в гене TAC1, что характерно для ОВИН.

Библиографический список

1. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency / W. Al-Herz, [et al.] // *J Clin Immun.* – 2018. – Vol.38 (1). – P. 129-143.
2. Speckmann, C. Genetic Disorders of Immune Regulation / C. Speckmann, J. Rohr, S. Ehl // *Primary Immunodeficiency Diseases: Definition, Diagnosis, and Management* // N. Resai [et al.]; editors A. Aghamohammadi, L. Notarangelo. – 2008. – Ch.5. – P. 167-186.
3. Autoimmunity in Immunodeficiency / K. Todoric, [et al.] // *Current Allergy and Asthma Reports.* – 2013. – Vol.13, №4. – P. 361-370.
4. Genetic analysis of patients with defects in early B-cell development / M.E. Conley [et al.] // *Immunological Reviews.* – 2005. – Vol.203. – P. 216-234.
5. New advances in the diagnosis and treatment of autoimmune lymphoproliferative syndrome / Teachey D. // *Current Opinion Pediatric Rev.* – 2012. – P.
6. B-cell activating factor receptor deficiency is associated with an adult-onset antibody deficiency syndrome in humans / K. Warnatz [et al.] // *Proc Nat Acad Sci USA.* – 2009. – Vol. 106. – P. 13945-13950.
7. Impaired CD4 and CD8 effector function and decreased memory T cell populations in ICOS-deficient patients / N. Takahashi [et al.] // *J Immunol.* – 2009. – Vol.182. – P. 5515-5527.
8. Dominant-negative effect of the heterozygous C104R TAC1 mutation in common variable immunodeficiency (CVID) / L. Garibyan [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation.* – 2007. – Vol.117(6). – P. 1550-1557.
9. Salzer, U. Mutations in TNFRSF13B encoding TAC1 are associated with common variable immunodeficiency in humans / U. Salzer // *Nat Genet.* – 2005. – Vol.37 (8). – P. 793-797.
10. Association of common variants in TNFRSF13B, TNFSF13, and ANXA3 with serum levels of non-albumin protein and immunoglobulin isotypes in Japanese / W. Osman [et al.] // *Plos one.* – 2012. – Vol.7 (4). ID32683.
11. Castigli, E. TAC1 is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency / E. Castigli // *Epub.* – 2005. – Vol.37(8). – P. 829-834
12. Janzi, M. Rare mutations in TNFRSF13B increase the risk of asthma symptoms in Swedish children / M. Janzi // *Genes Immun.* – 2012. – Vol.13(1). – P.59-65.
13. Clinical Associations of Biallelic and Monoallelic TNFRSF13B Variants in Italian Primary Antibody Deficiency Syndromes / F. Pulvirenti [et al.] // *Journal of Immunology Research.* – 2016. – ID 8390356. – P.14.

**M. Belevtsev, M. Shytikova, I. Gurianova, S. Sharapova, J. Zharankova,
A. Kupchinskaja, S. Aleshkevich, A. Salivonchik, I. Sakovich,
E. Poliarova, T. Uglova, O. Aleinikova**

**IMMUNOLOGICAL AND GENETIC FEATURES OF COMMON
VARIABLE IMMUNE DEFICIENCY (CVID) IN CHILDREN
AND ADULTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS**

The detection of patients with CVID in the Republic of Belarus is lower than the average in Europe and is 1:340 000 inhabitants. In the analysis of clinical and immunological parameters of 28 children and adults, we identified almost all infectious diseases, more often than the upper and lower respiratory tract and autoimmune complications (processes) in 20% of patients with CVID. In patients with CVID there is a statistically significant decrease in the number of memory Bcells and an increase in the absolute content of naive T-lymphocytes with CD8+CD45RA+ phenotype, as well as in the group of CVID there is a significant decrease in the formation of T-lymphocytes with CD45RO+phenotype. In almost all patients with autoimmune manifestations of CVID, there was an expansion of potentially «autoreactive CD19+CD27-IgD+IgMlow/-» B-lymphocytes in peripheral blood. 22% of patients showed mutations in the TACI gene, which is typical for patients with CVID.

Key words: *primary immunodeficiency, Common Variable Immune Deficiency, lymphocyte subpopulations, mutations in genes*

Поступила 07.03.2019