

Бондаренко А.В.¹, Чернышова Л.И.¹, Волоха А.П.¹, Костюченко Л.В.², Романышин Я.Ю.², Степановский Ю.С.¹

¹ Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

² Западноукраинский специализированный детский медицинский центр, Львов, Украина

Bondarenko A.¹, Chernysheva L.¹, Volokha A.¹, Kostyuchenko L.², Romanyshin Ya.², Stepanovskiy Yu.¹

¹ P. Shupyk National Medical Academy of Post-Graduate Education, Kiev, Ukraine

² West Ukrainian Specialized Children's Medical Center, Lviv, Ukraine

Молекулярно-генетическая характеристика первичных иммунодефицитов в Украине

Molecular genetic characteristics of primary immunodeficiency in Ukraine

Резюме

Первичные иммунодефициты (ПИД) – группа редких врожденных заболеваний, приводящих к нарушению иммунной защиты, в основе которых лежат многочисленные варианты генетических дефектов. Знание молекулярно-генетических особенностей ПИД в определенной популяции необходимо для разработки мероприятий по ранней диагностике этих заболеваний. В статье систематизированы данные по молекулярно-генетическим дефектам как причине развития ПИД в украинской популяции пациентов на основе генетического обследования 183 пациентов, в результате чего верифицировано 27 нозологий, обусловленных более 80 вариантами генетических мутаций.

Наиболее распространенной является «славянская мутация» 657del5, выявленная у всех 42 пациентов с синдромом Ниймеген в гомозиготном состоянии. Также высокой информативностью отмечено выявление микроделеций 22-й хромосомы при синдроме Ди Джорджа (94,1%). Для каждой из 21 семьи с наследственной гипогаммаглобулинемией и 15 семей с синдромом Вискотта – Олдрича была характерна своя уникальная мутация. Наиболее часто при наследственной гипогаммаглобулинемии мутации случались в 6-м и 16-м экзонах гена ВТК, при синдроме Вискотта – Олдрича – в 10-м экзоне гена WAS. Как причины ТКИД были выявлены поломки в генах IL-2RG и RAG-1, IL-2R α , ADA, Artemis и ДНК-лигазы. ХГБ была обусловлена мутациями в гене CYBB у 4/5 пациентов. Повторяющиеся мутации выявлены при синдроме Омена в гене RAG1 – с.2487_2488delGAinsTT и с.1331C>T, а также при аутоиммунном полиэндокринном синдроме 1-го типа (с.769C>T, с.834C>G), семейной средиземноморской лихорадке (с.2080A>G, с.605G>A), синдроме Швахмана – Даймонда (258+2T>C), синдроме Незертонна (с.2468_2469 ins A).

Также были идентифицированы спорадические гетерозиготные доминантные мутации гена STAT1 у двоих пациентов с хроническим кожно-слизистым кандидозом, приводящие к гиперфункции молекулы STAT-1 (gain-of-function mutation STAT-1), что позволило описать новую форму первичного иммунодефицита.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, синдром Ниймеген, синдром Вискотта – Олдрича, наследственная гипогаммаглобулинемия, регистр пациентов, генетическое обследование, мутации.

Abstract

Primary immunodeficiencies (PID) are a group of rare immune system congenital disorders underlined by numerous variants of genetic defects. Molecular genetic characteristics of PID in certain population is necessary for the developing measures for the early diagnosis of these diseases. The article summarizes the data on the molecular-genetic defects as a cause of PID in Ukrainian population of patients based on genetic testing of 183 patients, resulting in verified 27 nosology, caused by more than 80 variants of genetic mutations.

The most common is the "Slavic mutation" 657del5, identified in all 42 patients with Nijmegen syndrome in homozygous state. Microdeletions of chromosome 22 were also highly informative for Di George syndrome (94.1%). Unique mutation was identified for each 21 families with X-linked agammaglobulinaemia and 15 families with Wiskott-Aldrich syndrome. Mutations occurred most common in 6 and 16 exons of BTK gene and 10 exon of WAS gene. As a cause of SCID the defects were found in the genes IL-2RG and RAG-1, IL-2R α , ADA, Artemis and DNA ligase. CGD predominantly were caused by mutations in the gene CYBB (4/5 patients).

Recurrent mutations were identified as a cause of Omenn syndrom in RAG1 gene – c.2487_2488delGinsTT with. 1331S>T, as well as for Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 (c.769C>T, c.834C>G), Familial Mediterranean Fever (c.2080A> G, c.605G> A), Shvahman – Diamond syndrome (258+2T>C), Netherton syndrome (s.2468_2469 ins A).

There have also been identified sporadic heterozygous dominant mutations in STAT1 gene in two patients with chronic mucocutaneous candidiasis, resulting in hyperfunction of STAT-1 molecule (gain-of-function mutation STAT-1), which allowed to describe a new form of primary immunodeficiency.

Keywords: primary immunodeficiency, Nijmegen syndrome, X-linked hypogammaglobulinaemia, Wiscott – Aldrich syndrome, register of patients, mutations.

■ **ВВЕДЕНИЕ**

Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой группу заболеваний, являющихся результатом аномалий иммунной системы, которые приводят к нарушению иммунной защиты. В большинстве своем ПИД являются генетически детерминированными заболеваниями. Поскольку в нормальном функционировании иммунной системы участвуют множество типов клеток и сотни молекул, в основе ПИД лежат многочисленные варианты дефектов.

За последние 50–60 лет, прошедших с момента открытия первых ПИД (X-сцепленная агаммаглобулинемия, атаксия-телеангиэктазия, синдром Ди Джорджа), отмечался стремительный прогресс в развитии этого направления иммунологии. С конца 80-х годов определена генетическая основа большинства известных на то время нозологий ПИД. В настоящее время описано около 200 молекулярных дефектов, и этот перечень ежегодно пополняется.

Выявление ПИД, подсчет их количества и идентификация нозологических форм необходимы для разработки мероприятий по диагностике и лечению. Несмотря на многочисленные исследования по распространенности ПИД, на сегодня остается актуальным вопрос исследования частоты как в мире, так и в отдельно взятых странах. Данные из стран Восточной Европы мало представлены на мировом уровне, особенно

это касается стран бывшего Советского Союза. Одним из инструментов для систематизации данных о редких заболеваниях в мире являются регистры пациентов. Согласно данным национального регистра, количество первичных иммунодефицитов в Украине на 1 января 2015 г. составляет 814. Распределение ПИД, внесенных в регистр, по основным группам согласно классификации IUIS 2014 [1] в целом близко к структуре первичных иммунодефицитов в мире [2]. В регистре представлено 37 уточненных нозологических форм ПИД. Среди тяжелых иммунодефицитов наиболее распространены наследственная гипогаммаглобулинемия, общий переменный иммунодефицит, синдром Ди Джорджа, синдром Ниймеген, синдром Луи-Бар, синдром Вискотта – Олдрича.

Выявление значительного количества пациентов с первичными иммунодефицитами обуславливает необходимость генетического уточнения диагноза и систематизации данных про выявленные мутации для определения наиболее распространенных среди населения, а также ранней и пренатальной диагностики этих заболеваний. Кроме того, несмотря на подобие механизмов, лежащих в основе заболеваний, отмечаются существенные колебания в клинических проявлениях, возрасте манифестации и тяжести синдромов даже при одинаковых нозологических формах, что многие авторы связывают с вариантами генетических мутаций. Знание молекулярно-генетических особенностей ПИД в определенной популяции позволило бы не только выявить этнические фиксированные мутации, что сократило бы стоимость и время на уточнение диагноза, но и прогнозировать течение заболевания и выбирать оптимальную лечебную тактику с учетом генотипически-фенотипической корреляции.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить характерные для украинской популяции пациентов молекулярно-генетические дефекты как причины развития ПИД, а также фенотипически-генотипическую корреляцию.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Молекулярно-генетическая характеристика ПИД основывалась на 183 генетически обследованных пациентах.

Генетическая верификация диагноза пациентов с синдромом Ди Джорджа осуществлялась в Украинском медико-генетическом центре (Киев), синдромами Луи-Бар и Ниймеген – в Институте наследственной патологии (Львов). Молекулярно-генетический анализ генов BTK, CD40-лиганда, IL-2RG, Artemis, WAS, STAT3, CYBB, ELA2, AIRE, FAS, STAT1, MEV1, FASC проведен на кафедре детских инфекционных болезней и детской иммунологии Дебреценского университета в рамках договора о сотрудничестве между Дебреценским университетом и НМАПО им. П.Л. Шупика. Значительная часть генетических исследований (гены CYBB, RAG-1, WAS, AIRE, дефицит ДНК-лигазы) выполнена в Республиканском детском центре онкологии, гематологии и иммунологии (Беларусь) в рамках научного сотрудничества. Молекулярно-генетические исследования большинства пациентов с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (ТКИД) и синдромом Вискотта – Олдрича осуществлены в генетической лаборатории детского гражданского госпиталя г. Брешиа

(Италия) благодаря помощи благотворительной организации LifeLine. Исследования молекулярных дефектов при дефиците рецептора к ИЛ-12 (IL-12R β 1) и аутосомно-рецессивной хронической гранулематозной болезни (ген CYBA) выполнены в лаборатории генетики инфекционных заболеваний человека института INSERM (Париж, Франция). Обследование 4 пациентов с синдромом Вискотта – Олдрича и одной пациентки с АПС-1 выполнены в Федеральном научно-клиническом центре детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева (Москва, Россия). Отдельные молекулярно-генетические исследования выполнены во время обследования и лечения пациентов в клиниках Израиля, Германии, Нидерландов.

Молекулярно-генетическую диагностику синдрома Ниймеген и атаксии-телеангиэктазии (АТ) проводили методом ПЦР (определяли мутацию 657del5 гена NBN у пациентов с синдромом Ниймеген и мутации 7636del9nt, IVS53-2A→C, 6095G→A, 5932G→T, 3214G→T, 6095G→A гена ATM у пациентов с синдромом Луи-Бар). Генетическая диагностика синдрома Ди Джорджа основывалась на определении микроделеции в локусе 22-й хромосомы FISH-методом. Определение мутаций гена Btk (тирозинкиназы Брутона) и AICDA (активационно-индуцированной цитидиндеаминазы) осуществлено с использованием методов ПЦР и конформационного полиморфизма однонитчатой ДНК. У двух пациентов, у которых не удалось выявить мутацию гена Btk с помощью метода конформационного полиморфизма однонитчатой ДНК, проведено дальнейшее исследование ДНК методом сравнительной гибридизации генома.

Мутационный анализ генов IL-2RG, IL7Ra, ADA, Jak3, RAG1, RAG, BTK, Fas, WAS был проведен методом прямого секвенирования после скрининга мутаций с использованием метода SSCP на геномной ДНК. Для оценки полиморфизма генов использовались базы данных Ensembl Genome Browser (www.ensembl.org), Cosmic (www.cancer.sanger.ac.uk). Мутации в гене STAT1 были выявлены с помощью полноэкзомного секвенирования с последующим сравнением с 1052 контролями из 52 этнических групп баз данных Centre d'Etude du Polymorphisme Human (CEPH) и Human Genome Diversity (HGD) с целью исключения полиморфизма генов.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Положительный результат генетического исследования был получен у 157 из 183 обследованных пациентов (85,7%) (табл. 1).

Как видно из табл. 1, некоторые нозологические формы (наследственная гипогаммаглобулинемия, синдром Ниймеген, синдром Вискотта – Олдрича, синдром Ди Джорджа) имеют высокий удельный вес как обследованных пациентов, так и найденных генетических аномалий, другие представлены единичными случаями как самих заболеваний, так и генетических аномалий и представляют лишь научный интерес, но не дают возможности обобщения результатов.

У всех обследованных пациентов с синдромом Ниймеген выявлена «славянская мутация» 657del5 в гомозиготном состоянии. Также высокой информативностью отличалось выявление микроделеций 22-й хромосомы у пациентов с клиническим фенотипом синдрома Ди Джорджа (94,1%).

Таблица 1

Молекулярно-генетическая характеристика первичных иммунодефицитов в Украине

Нозологическая форма ПИД	Количество пациентов (n ¹ /n ² /n)*	Мутантный ген
Наследственная гипогаммаглобулинемия (болезнь Брутона)	26/33/53	BTK
Синдром гипериммуноглобулинемии М	4/4/11	CD40LG (3) AICDA (1)
Тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД)	14/15/65	IL-2RG (4)
		RAG-1 (4)
		IL-2R α (1)
		АДА (2)
		Artemis (2)
		ДНК-лигаза (1)
Синдром Ди Джорджа	17/18/42	Микроделеция 22-й хромосомы 22q11.2
Синдром Вискотта – Олдрича	19/19/26	WAS
Атаксия-телеангиэктазия (синдром Луи-Бар)	6/18/39	ATM
Синдром Ниймеген	42/42/42	NBN
Гипер-IgE-синдром	4/9/20	STAT3 (3)
		DOCK8 (делеция 6–16 экзонов) (1)
Хроническая гранулематозная болезнь	5/5/12	CYBA (1)
		CYBB (4)
Синдром Швахмана – Даймонда	2/2/2	SBDC
Дефицит рецептора-1 ИЛ-12	4/4/4	IL-12R β 1
Циклическая нейтропения	1/1/8	ELA2
Аутоиммунный полигландулярный синдром I типа	2/2/4	AIRE
Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром	1/1/1	FAS
Синдром Незертон	3/3/3	SPINK5
Хронический кожно-слизистый кандидоз	2/2/4	STAT1
Семейная средиземноморская лихорадка	2/2/2	MEVF
Хронический детский кожно-артикулярно-неврологический синдром	2/2/2	FASC
Синдром гипериммуноглобулинемии D	1/1/1	MVK

Примечание: * – данные о количестве пациентов поданы в виде n¹/n²/n, где n¹ – количество пациентов, у которых найдены мутации, n² – количество генетически обследованных пациентов, n – общее количество пациентов с данным диагнозом в регистре.

Среди обследованных 33 пациентов с наследственной гипогаммаглобулинемией у 26 (78,8%) было выявлено 19 различных мутаций гена BTK, локализованного на X-хромосоме, и делеция генов BTK+DDP1+TAF7L+DRP2 у двоих братьев-близнецов (табл. 2). В 4 случаях повторяющихся мутаций они отмечались у братьев из одной семьи, а также одинаковая сплайс-сайт мутация IVS6+1G>A в 6-м экзоне гена BTK выявлена у двоих пациентов из разных семей, причем у одного из них эта мутация была спорадической. Таким образом, для каждой семьи была характерна уникальная мутация. Наиболее часто мутации случались в 6 и 16 экзонах. Из выявленных 19 мутаций 11 были точечные миссенс-мутации, 5 сплайс-сайт мутаций, 2 делеции и 1 нонсенс-мутация (табл. 2).

Таблица 2
Мутации гена ВТК у пациентов с наследственной гипогаммаглобулинемией

Экзон	Нуклеотидные aberrации
2	сплайс-сайт IVS2+1G>A
3	делеция с.317_318delAT
5	миссенс с.349A>G
6	миссенс с.455A>G, сплайс с.520+1G>A (IVS6+1G>A) – 2
7	сплайс-сайт IVS7+2delT
12	делеция с. 997-1004 8 bp (CATTATGT)
14	миссенс с.1321G>T – 2*, сплайс с.1349+5G>C
15	миссенс с.1462G>T – 2*
16	миссенс с.1573C>T, миссенс с.1574G>A, сплайс с.1631+2T→C, делеция с.1589_1590delACinsTA
17	миссенс с.1773T>G – 2*
18	миссенс с.178G>A, нонсенс с.2065 G>A
19	миссенс с.1921C>T, миссенс с.1921C>A
	коделеция генов Btk+DDP1+TAF7L+DRP2 – 2*

Примечание: * – дети из одной семьи.

Таким образом, наибольшее количество мутаций (12 из 19 разновидностей, 63,2%) было выявлено в 6 экзонах (13–19), которые кодируют каталитический домен киназы. На втором месте по частоте – мутации в ТН домене (3 мутации в 6-м экзоне и 1 мутация в 7-м экзоне). Три мутации выявлены в 2, 3 и 5 экзонах, кодирующих РН домен. Разнообразие выявленных мутаций не позволяет выявить мажорных и, очевидно, отражает высокий уровень спонтанных мутаций гена ВТК, что согласуется с данными литературы. В то же время большинство работ указывают на наибольшее количество мутаций, случающихся в каталитическом домене киназы (СН) и домене РН [3, 4]. Четкой взаимосвязи между вариантом мутации и клинической манифестацией и тяжестью течения болезни не выявлено.

Генетическая основа заболевания подтверждена у 19 пациентов с синдромом Вискотта – Олдрича из 15 неродственных семей (табл. 3). В этих 15 семьях выявлено 15 различных мутаций, локализованных в 7 экзонах (1, 3, 4, 7, 9, 10, 11), 8-м интроне, и одна большая делеция 22 bp на границе интрона 3 и экзона 4. Большинство мутаций (6/15) локализовались в 10-м экзоне. Среди выявленных 15 мутаций WAS-гена было 8 делеций, 2 инсерции (вставки), 2 сплайс-сайт мутации, 1 миссенс-мутация и 2 нонсенс-мутации. Таким образом, наиболее частыми поломками гена WAS были делеции, причем делеции наиболее часто случались именно в 10-м экзоне.

У 5 пациентов из 4 семей найдены новые, ранее не описанные в других популяциях мутации WAS-гена: с.1223-1222 del AT, с.С58T, 645-648 ins C, с.361-1_11 del 11bp+ с.361-371 del 11bp.

У большинства пациентов (17/19) наблюдалась классическая клиническая триада синдрома Вискотта – Олдрича: геморрагический, инфекционный синдромы и экзема, у 2 пациентов отмечалась лишь изолированная тромбоцитопения, у 1 пациента – сочетание тромбоцитопении и проявлений иммунодефицита без атопического дерматита.

При делециях и миссенс-мутации отмечались наиболее тяжелые проявления инфекционного синдрома с ранним дебютом тяжелых угрожа-

Таблица 3

Мутации WAS-гена у пациентов с синдромом Вискотта – Олдрича

Мутация WAS-гена	
Экзон	Нуклеотидные aberrации
1	нонсенс-мутация с.С58Т (2*)
3	сплайс-сайт С.360+3А>Т (2*); вставка с.342-343 ins TTC C>Т (2*)
4	делеция 22 bp с.361-1_11del11bp+с.361_371del11bp
4	миссенс с.460 G>Т
7	делеция с.692delА, вставка 645-648 ins С
8	сплайс-сайт IV S8 + 1-4 delgtga
10	делеция с.1257-1258 delАТ→p.fs427Х; делеция delCG в 402 кодоне; делеция с.1157delС, точечная делеция (данные не предоставлены); нонсенс с.С995Т → p.R321Х
11	делеция с. 1386_1387delСТ; делеция с.329/330 delС(444) (2*)

Примечание: пациенты с одинаковыми мутациями – дети из одной семьи.

ющих жизни бактериальных (пневмонии) или вирусных (генерализованная ЦМВ- и ЭБВ-инфекции, ветряная оспа с поражением ЦНС) инфекций, в то время как при сплайс-сайт, инерциях и нонсенс-мутациях преимущественно отмечались рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей, хотя с возрастом прогрессирование инфекционного синдрома наблюдалось практически у всех пациентов, что соответствует данным литературы о прогрессивном течении иммунодефицита при синдроме Вискотта – Олдрича. Геморрагический синдром у разных пациентов отличался по тяжести, но жизнеугрожающие кровотечения отмечались лишь в случае делеций (4 из 9 пациентов). Проявления атопического дерматита имели переменное течение независимо от типа мутации.

Из 4 обследованных пациентов с синдромом гипергаммаглобулинемии М у 3 были определены гемизиготные мутации гена CD40LG (2 – миссенс и 1 делеция) на X-хромосоме, у 1 девочки – гомозиготная миссенс-мутация с.259Т→С в гене AICDA, ответственном за аутосомно-рецессивный вариант данного синдрома.

У 6 из 18 (33%) пациентов с атаксией-телеангиэктазией установлено гетерозиготное носительство одной из 7 мутаций гена ATM, на которые проводится обследование в Украине (Институт наследственной патологии, г. Львов): миссенс 5932G>Т – 2, сплайс-сайт IVS53-2A>С, миссенс 3214G>Т, миссенс 6095G>А – 2. Таким образом, очевидно, данные мутации не могут рассматриваться как мажорные для Украины, поскольку были выявлены лишь в 6 из 36 аллелей (16,6%).

Как видно из табл. 4, генетическая природа ТКИД установлена у 14 пациентов (из 15 обследованных). Небольшое количество обследованных обусловлено быстрой гибелью пациентов до возможности генетического подтверждения диагноза. Наиболее часто поломки были выявлены в генах IL-2RG и RAG-1, также мутации были выявлены в генах IL-2Rα, ADA, Artemis и редкий случай дефицита ДНК-лигазы.

Лишь в случае ТКИД вследствие дефекта RAG1 отмечались мутации, встречающиеся более одного раза у неродственных пациентов. Поскольку данное заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу, то в целом были выявлены мутации в 8 аллелях, из них 3/8 – делеция с.368-369delAA (у одного пациента в гомозиготном, у другого – в гетерозиготном состоянии), также дважды (2/8) выявлена миссенс-мутация

Таблица 4
Выявленные генетические мутации при ТКИД

Мутантный ген	Нуклеотидные aberrации
IL-2RG (4)	делеция с.678delAT, p.W174S, с.690delT (p.R226C)
RAG-1 (4)	делеция с.2487_2488delGAinsTT, миссенс с. 1331C>
IL-2R α (1)	данные не представлены
ADA (2)	R101Q в 4-м экзоне, A329V в 11-м экзоне, D8N в 1-м экзоне
Artemis (2)	комбинация гетерозиготных мутаций p.I14T i Del1-4 ex.
DNA Lig IV (1)	3*del (с.2736+3delC) i p.A3V + p.T9I

с.1331C>T в гетерозиготном состоянии. Это позволяет предположить, что данные мутации являются частыми в украинской популяции пациентов с дефектом RAG1, так же как и среди других славянских популяций [5].

При синдроме гипергаммаглобулинемии E у 2 пациентов были выявлены разные доминантные мутации в гене STAT3 (миссенс: с.1144C>T, миссенс с.1228C>T), у одного пациента – большая делеция в гене DOCK8, ответственная за развитие аутосомно-рецессивного варианта гипер-IgE-синдрома.

Молекулярно-генетическое исследование осуществлено у 5 детей с хронической гранулематозной болезнью (ХГБ). У 4 мальчиков идентифицированы мутации в гене CYBB, расположенном на X-хромосоме (X-сцепленный вариант): во 2-м (миссенс с.123C>A, миссенс с.141 A>C) и 5-м экзонах (миссенс с.374G>A, вставка с. 442dup). У одной девочки был выявлен аутосомно-рецессивный вариант болезни – комбинация гетерозиготных мутаций в гене CYBA. Мутации в 5-м экзоне гена CYBB были ассоциированы с лучшим контролем над инфекционным синдромом с помощью антимикробной профилактики и отсутствием в анамнезе генерализованной БЦЖ-инфекции в сравнении с другими локализациями генетических дефектов.

У двоих пациентов с аутоиммунным полиэндокринным синдромом 1-го типа выявлены разные миссенс-мутации гена AIRE, но у обоих одинаковые в гомозиготном состоянии. Выявленная в гомозиготном состоянии у девочки из Донецкой области так называемая финская мутация с.769C>T (R257X) наиболее часто встречается в российской популяции. У мальчика, родители которого родом из Западного региона Украины, выявлена другая гомозиготная мутация с. 834C>G. У пациентки с мутацией с.769C>T мы наблюдали типичное течение синдрома (с наличием 2 из 3 классических компонентов – хронический кожно-слизистый кандидоз, гипопаратиреоз и хроническая надпочечниковая недостаточность) [6, 7], у мальчика с мутацией с. 834C>G – атипичный дебют синдрома (без классических клинических критериев диагноза с большим количеством минорных проявлений и потенциально летальным геморагическим синдромом) [8].

Также интересны молекулярно-генетические находки при семейной средиземноморской лихорадке: у двух пациенток из разных частей Украины (восточной и западной) выявлены разные миссенс-мутации (с.2080A>G, с.605G>A), но у обоих пациентов в гомозиготном состоянии. У одного из пациентов с синдромом Швахмана – Даймонда, рожденного не в близкородственном браке, также выявлена гомозиготная сплайс-мутация 258+2T>C во 2-м экзоне гена SBDC, так же как и у одного из

пациентов с синдромом Незертона (гомозиготная мутация с.2468_2469 ins A в гене SPINK5). У пациента с клиническим фенотипом синдрома гипериммуноглобулинемии D были выявлены две редкие гетерозиготные мутации в гене MVK: с.748G>A (экзон 8), с.943_944delCT (экзон 10). Небольшое количество наблюдений в этих случаях не позволяет установить частые мутации, но эти данные могут быть использованы при дальнейших исследованиях.

У двоих пациентов с хроническим кожно-слизистым кандидозом, находившихся под нашим наблюдением, были идентифицированы спорадические гетерозиготные доминантные мутации гена STAT1, не выявленные у их родителей, приводящие к гиперфункции молекулы STAT-1 (gain-of-function mutation STAT-1) [9, 10]. Ранее известные мутации гена STAT1 приводили к потере функции белка и были связаны с менделевской восприимчивостью к микобактериальным инфекциям (MSMD) [11]. Выявленные мутации с.494A>G в 7-м экзоне СС-домена и с.1154C>T (T385M) в 14-м экзоне в ДНК-связывающем домене гена STAT1 приводят к усилению фосфорилирования белка STAT1 и, как следствие, нарушению IL-17-опосредованного иммунного ответа и развитию повышенной чувствительности к грибковым инфекциям из-за усиленного ответа на интерлейкины IFN- γ , IFN- α и IL-27. Мутация с.494A>G (D165G) в 7-м экзоне гена ассоциирована с наиболее тяжелым клиническим и иммунологическим фенотипом среди всех пациентов с мутациями данного гена, описанными в мире [8–10, 12].

Проведенные молекулярно-генетические исследования позволили подтвердить клиническое подозрение на первичный иммунодефицит у большинства пациентов, дали возможность для проведения пренатальной диагностики в семьях пациентов, позволили выявить повторяющиеся в популяции мутации, расширить представления о спектре клинических проявлений АПС-1, в том числе с возможным отсутствием типичных проявлений синдрома в дебюте заболевания, а также описать новую форму первичного иммунодефицита вследствие мутации гена STAT1 с усилением функции белка STAT1 GOF.

■ ВЫВОДЫ

Спектр генетически верифицированных ПИД в Украине представлен 27 нозологиями, обусловленными более 80 вариантами генетических мутаций.

Наиболее распространенной является «славянская мутация» 657del5, которая встречается у всех пациентов с синдромом Ниймеген в гомозиготном состоянии. Также высокой информативностью отмечается выявление микроделаций 22-й хромосомы при синдроме Ди Джорджа (94,1%). При наследственной гипогаммаглобулинемии и синдроме Вискотта – Олдрича для каждой семьи была характерна своя уникальная мутация. Наиболее часто при наследственной гипогаммаглобулинемии мутации случались в 6-м и 16-м экзонах, при синдроме Вискотта – Олдрича – в 10-м экзоне.

Повторяющиеся мутации выявлены при синдроме Омена в гене RAG1 – с.2487_2488delGAinsTT и с. 1331C>T, а также при семейной средиземноморской лихорадке (с.2080A>G, с.605G>A), синдроме Швахмана – Даймонда (258+2T>C), синдроме Незертона (с.2468_2469 ins A).

Неблагоприятными по раннему дебюту тяжелых инфекционных проявлений при синдроме Вискотта – Олдрича являются делеции гена WAS независимо от локализации, нонсенс- и сплайс-сайт мутации были ассоциированы с медленным прогрессированием инфекционного синдрома и поздним дебютом тяжелых инфекций, так же как и умеренными проявлениями геморрагического синдрома.

В 4/5 случаев (80%) хронической гранулематозной болезни заболевание было обусловлено мутациями в гене CYBB, причем мутации в 5-м экзоне были ассоциированы с лучшим контролем над инфекционным синдромом по сравнению с другими локализациями.

Мутация с.494A>G (D165G) в 7-м экзоне гена STAT1 ассоциирована с наиболее тяжелым клиническим и иммунологическим фенотипом среди всех пациентов с мутациями данного гена, приводящими к усилению функции белка STAT1.

Благодарность

Авторы благодарны всем вышеперечисленным организациям, в которых были осуществлены генетические исследования украинских пациентов с ПИД, и их сотрудникам. В частности – особая благодарность профессору Ласло Мароди (кафедра детских инфекционных болезней и детской иммунологии Дебреценского университета), Шараповой Светлане Олеговне (Республиканский детский центр онкологии, гематологии и иммунологии, Беларусь), профессору Щербине Анне Юрьевне (Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Россия). Также авторы высказывают благодарность благотворительной организации LifeLine.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.-L. (2014) Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front. Immunol.*, vol. 5, 39 p.
2. Chernyshova L., Bondarenko A., Kostiuhenko L., Volokha A., Yakimovych S., Savvo O., Rabosh O., Nikonets L. (2012) Perspektivy i problemy stvorenniya natsionalnogo reestru hvoryh na pervynni imunodefitsyty [Perspectives and problems of creation of national primary immunodeficiency registry] *Sovremennaya Pediatriya*, vol. 45, no 5, pp. 8–14.
3. Conley M.E., Broides A., Hernandez-Trujillo V. (2005) Genetic analysis of patients with defects in early B-cell development. *Immunol Rev.*, vol. 203, pp. 216–234.
4. Plebani A., Soresina A., Rondelli R. et al. (2002) Clinical, immunological, and molecular analysis of a large cohort of patients with X-linked agammaglobulinemia in Italian multicenter study. *J. Clin Immunol*, vol. 104, no 3, pp. 221–230.
5. Sharapova S., Guryanova I., Pashchenko O., Kondratenko I., Kostiuhenko L., Bondarenko A., Chernyshova L., Gyseva M., Belevtsev M., Minakovskaya N., Aleinikova O. (2014) Molecular characteristics, clinical and immunological manifestation of 9 children with Omenn syndrome in East Slavs (Russia, Belarus, Ukraine). *J. Clinical Immunology*, vol. 24, no 6, p. 744.
6. Orlova E., Bukina A., Zakharova E. et al. (2005) Kriterii diagnostiki autoimmunnogo poliglandulyarnogo sindroma 1 tipa [Diagnostic criteria for the autoimmune polyglandular syndrome I]. *Rossiyskiy vestnik perynatologii i pediatrii*, no 5, pp. 57–60.