

## ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАЗВИТИИ АУТОИММУННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИ ДЖОРДЖИ

Давыдова Н.В.<sup>1</sup>, Зиновьева Н.В.<sup>1</sup>, Зимин С.Б.<sup>2</sup>, Шве́ц О.В.<sup>3</sup>,  
Галеева Е.В.<sup>1</sup>, Конопляникова Ю.Е.<sup>1</sup>, Молочникова О.В.<sup>1</sup>,  
Петрова Ю.В.<sup>1</sup>, Гильдеева Г.Н.<sup>4</sup>, Козлов И.Г.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

<sup>3</sup> Поликлиника № 3 АО «Семейный доктор», Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»  
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

**Резюме.** Для пациентов с синдромом делеции 22q11.2 (синдром Ди Джорджи) характерно сочетание широкого спектра педиатрических проблем с иммунодефицитным состоянием, вызванным гипоплазией тимуса. Дефекты наблюдаются как в Т-клеточном, так и в В-клеточном звене иммунной системы, характеризуются Т-клеточной лимфопенией, изменением функций и субпопуляционного состава Т- и В-лимфоцитов. Нарушения в лимфоцитарном гомеостазе могут приводить не только к тяжелым инфекционным заболеваниям, но и к жизнеугрожающим аутоиммунным осложнениям, особенно у детей старшего возраста. Целью настоящего исследования являлось сравнение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у пациентов с синдромом Ди Джорджи с аутоиммунными осложнениями и без осложнений и поиск прогностических признаков, предшествующих развитию осложнений. В исследование были включены 20 пациентов в возрасте от 10 до 18 лет с подтвержденным диагнозом синдром Ди Джорджи. Пациенты были разделены на 2 группы в соответствии с наличием и отсутствием аутоиммунных осложнений. Субпопуляции Т- и В-лимфоцитов оценивали методом проточной цитометрии. Не было обнаружено статистически значимых различий между субпопуляциями CD3 Т-лимфоцитов, CD4 Т-хелперов, CD8 Т-цитотоксических лимфоцитов и субпопуляциями Т-хелперов ( $p > 0,05$ ). Однако в группе пациентов с аутоиммунными осложнениями было выявлено статистически значимое снижение CD45RA<sup>+</sup> наивных Т-хелперов, как по относительному ( $p = 0,020$ ), так и по абсолютному

### Адрес для переписки:

Давыдова Наталья Владимировна  
ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9  
имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы»  
123317, Россия, Москва, Шмитовский пр-д, 29.  
Тел.: 8 (916) 447-82-03.  
E-mail: nata1902@yandex.ru

### Address for correspondence:

Nataliia V. Davydova  
G. Speransky City Children's Hospital No. 9  
29 Shmitovsky Proezd  
Moscow  
123317 Russian Federation  
Phone: +7 (916) 447-82-03.  
E-mail: nata1902@yandex.ru

### Образец цитирования:

Н.В. Давыдова, Н.В. Зиновьева, С.Б. Зимин,  
О.В. Шве́ц, Е.В. Галеева, Ю.Е. Конопляникова,  
О.В. Молочникова, Ю.В. Петрова, Г.Н. Гильдеева,  
И.Г. Козлов «Прогностические изменения субпопуляций  
лимфоцитов при развитии аутоиммунных  
осложнений у пациентов с синдромом Ди Джорджи»  
// Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 4.  
С. 777-786. doi: 10.15789/1563-0625-PCI-16947

© Давыдова Н.В. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

N.V. Davydova, N.V. Zinovieva, S.B. Zimin, O.V. Shvez,  
E.V. Galeeva, Yu.E. Konoplyannikova, O.V. Molochnikova,  
Yu.V. Petrova, G.N. Gildeeva, I.G. Kozlov "Prognostic  
changes in lymphocyte subpopulations during the development  
of autoimmune complications in patients with DiGeorge  
syndrome", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 4, pp. 777-786.  
doi: 10.15789/1563-0625-PCI-16947

© Davydova N.V. et al., 2024

The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-PCI-16947

количеству ( $p = 0,025$ ) и регуляторных Т-клеток (соответственно,  $p = 0,020$  и  $p = 0,007$ ). Среди субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с аутоиммунными осложнениями было выявлено снижение В-клеток памяти по относительному ( $p = 0,031$ ) и абсолютному количеству ( $p = 0,005$ ) и переключенных В-клеток памяти ( $p = 0,016$  и  $p = 0,031$ ). Но транзиторные В-лимфоциты, наоборот, были повышены по относительному количеству ( $p = 0,003$ ). По уровню плазмбластов, активированных В-лимфоцитов CD21<sup>low</sup>CD38<sup>low</sup>, IgM only В-клеток памяти расхождений между группами не было ( $p > 0,05$ ). Проведенный ROC-анализ показал, что наиболее диагностически и прогностически значимые показатели среди Т-лимфоцитов — относительное количество CD45RA<sup>+</sup> наивных Т-клеток (cut-off  $\leq 28,7\%$ ), среди В-лимфоцитов — относительное (cut-off  $\leq 5,0\%$ ) и абсолютное количество (cut-off  $\leq 11$  клеток/мкл) переключенных В-клеток памяти и относительное количество транзиторных В-клеток (cut-off  $\geq 12,9\%$ ). Патология развития тимуса у больных с синдромом Ди Джорджи вызывает нарушение созревания как Т-, так и В-лимфоцитов, приводящее к развитию тяжелых форм аутоиммунных осложнений. Наши данные подтверждают важную роль регулярного иммунофенотипирования лимфоцитов, а особенно субпопуляций CD45RA<sup>+</sup> наивных Т-клеток, переключенных В-клеток памяти и транзиторных В-клеток в прогнозировании аутоиммунных осложнений у данной категории пациентов.

**Ключевые слова:** синдром Ди Джорджи, del22q11.2, аутоиммунные осложнения, иммунная тромбоцитопения, лимфоциты, наивные Т-лимфоциты, переключенные В-клетки памяти, транзиторные В-клетки

## PROGNOSTIC CHANGES IN LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS DURING THE DEVELOPMENT OF AUTOIMMUNE COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH DIGEORGE SYNDROME

Davydova N.V.<sup>a</sup>, Zinovieva N.V.<sup>a</sup>, Zimin S.B.<sup>b</sup>, Shvez O.V.<sup>c</sup>,  
Galeeva E.V.<sup>a</sup>, Konoplyannikova Yu.E.<sup>a</sup>, Molochnikova O.V.<sup>a</sup>,  
Petrova Yu.V.<sup>a</sup>, Gildeeva G.N.<sup>d</sup>, Kozlov I.G.<sup>d</sup>

<sup>a</sup> G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Morozov City Children's Hospital, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Polyclinic No. 3 of JSC "Family Doctor", Moscow, Russian Federation

<sup>d</sup> I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Patients with 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome) are characterized by a combination of a wide range of pediatric problems with an immunodeficiency. Defects are characterized by T cell lymphopenia, changes in the functions and subpopulation composition of T and B lymphocytes. Disturbances in lymphocyte homeostasis can lead not only to severe infectious diseases, but also to autoimmune complications, especially in older children. The purpose of this study was to compare the subpopulations of T and B lymphocytes with and without autoimmune complications and to search for prognostic signs that precede the development of complications. The study included 20 patients aged 10 to 18 years with a confirmed diagnosis of DiGeorge syndrome. The patients were divided into 2 groups, according to the presence or absence of autoimmune complications. Subpopulations of lymphocytes were assessed by flow cytometry. No statistically significant differences were found between CD3 T lymphocytes, CD4 T helper, CD8 T cytotoxic and subpopulations of T helper ( $p > 0.05$ ). However, in the group of patients with autoimmune complications, a statistically significant decrease in CD45RA<sup>+</sup> naive T helper cells was detected, both in relative ( $p = 0.020$ ) and absolute number ( $p = 0.025$ ) and regulatory T cells (respectively,  $p = 0.020$  and  $p = 0.007$ ). Among B-lymphocyte in patients with autoimmune complications, a decrease in memory B cells in relative ( $p = 0.031$ ) and absolute number ( $p = 0.005$ ) and switched memory ( $p = 0.016$  and  $p = 0.031$ ) was detected. But transitional B lymphocytes, on the contrary, were increased in relative quantity ( $p = 0.003$ ). There were no differences between the groups in the level of plasmablasts, activated B-lymphocytes CD21<sup>low</sup>CD38<sup>low</sup>, IgM only B-cells ( $p > 0.05$ ). The ROC analysis showed that the most diagnostically and prognostically significant indicators are the relative number of CD45RA<sup>+</sup> naive T cells (cut-off  $\leq 28.7\%$ ), switched memory B cells — relative (cut-off  $\leq 5.0\%$ ) and the absolute number (cut-off  $\leq 11$  cells/ $\mu$ L) and the relative number of transitional B cells (cut-off  $\geq 12.9\%$ ). Our data

confirm the important role of regular immunophenotyping and especially subpopulations of CD45RA<sup>+</sup> naive T cells, switched memory B cells and transitional B cells in predicting autoimmune complications in this category of patients.

*Keywords: DiGeorge syndrome, del22q11.2, autoimmune complications, immune thrombocytopenia, lymphocytes, naive T lymphocytes, switched memory B cells, transitional B cells*

## Введение

Синдром Ди Джорджи (СДД) вызван гетерогенной субмикроскопической делецией длинного плеча 22-й хромосомы — del22q11.2, которая является одной из самых частых делеций в человеческом геноме: 1:4000 [3]. Большинство случаев del22q11.2 (> 90%) возникает *de novo*, с отсутствием микроделеции у обоих родителей [11]. Следствием микроделеции del22q11.2 является потеря важных для дальнейшего развития генов, один из ведущих TBX1. В результате этого отмечается нарушение эмбриогенеза III и IV глоточных карманов, из которых в норме на 6-й неделе внутриутробного развития формируются тимус и парашитовидные железы. Одновременно происходит патологический эмбриогенез других структур: сердца, крупных магистральных сосудов, лицевых костей черепа. СДД — один из самых вариабельных и мультисистемных клинических синдромов. Основными признаками СДД являются пороки сердца и определенные дисморфические черты лица (антимонголоидный разрез глаз, низкопосаженные уши, широкая переносица, микрогнатия, расщелина губы и неба, расщепленный небный язычок, мелкие зубы и др.), гипокальциемия в результате гипоплазии парашитовидных желез и гипоплазия или аплазия тимуса с дальнейшим развитием иммунодефицитного состояния. Часто встречающиеся неврологические нарушения: задержка речи и психического развития, судороги, тики, а также аномалии скелета, такие как сколиоз, вальгусная деформация стоп, задержка роста и веса [12].

Для СДД характерно сочетание огромного спектра педиатрических проблем с иммунодефицитным состоянием, вызванным гипоплазией тимуса. У пациентов с СДД дефекты наблюдаются как в Т-клеточном, так и в В-клеточном звене. У большинства пациентов снижены Т-лимфоциты, наивные Т-лимфоциты, наблюдаются изменения в субпопуляционном составе Т-хелперов. Количество В-лимфоцитов в норме или повышено, однако часто снижены В-лимфоциты памяти [7]. Нарушения в лимфоцитарном гомеостазе могут приводить к аутоиммунным осложнениям (АО), одним из самых тяжелых и жизнеугрожающих. У пациентов с СДД были выявлены различные аутоиммунные заболевания, включающие ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА), хроническую иммунную

тромбоцитопению (хр. ИТП), аутоиммунную гемолитическую анемию (АИГА), неспецифический язвенный колит (НЯК), тиреоидит, частота которых была выше, чем в общей популяции [10, 13, 14, 17]. Гипоплазия тимуса у пациентов с СДД компенсируется механизмом гомеостатической пролиферации на периферии, который приводит к Т-клеточному истощению и появлению маркеров, ассоциированных со старением. Возможно, Т-клеточное истощение является причиной того, что аутоиммунные осложнения прогрессируют у этих больных с возрастом [15, 19].

**Целью настоящего исследования** было сравнение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у пациентов с СДД с АО и без осложнений в старшей возрастной группе 10-18 лет и поиск прогностических признаков, предшествующих развитию АО.

## Материалы и методы

### Дизайн исследования

Исследование проведено в ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского. Пациенты с СДД поступали на обследование в отделение аллергологии и иммунологии в период с 2013 по 2023 год. Все пациенты имели подтвержденную молекулярно-генетическими методами делецию 22q11.2 (секвенирование по Сенгеру, метод FISH, MALP, СМА). В исследование были включены 20 пациентов в возрасте от 10 до 18 лет с подтвержденным диагнозом СДД. Пациенты были разделены на 2 группы в соответствии с наличием (АО) и отсутствием аутоиммунных осложнений (БАО).

Письменное разрешение родителей было получено на все проводимые исследования в соответствии с решением этического комитета.

### Анализ субпопуляций Т-лимфоцитов

Субпопуляции лимфоцитов оценивали методом проточной цитометрии. Свежую периферическую цельную кровь с ЭДТА инкубировали с антителами в течение 15 мин в темноте при комнатной температуре. Т-лимфоциты, Т-хелперы и Т-цитотоксические лимфоциты определяли с помощью 4-цветного антитела Малти-тест CD3FITC/CD8 PE/CD45PerCp/CD4 APC. Наивные Т-клетки и Т-клетки памяти исследовали с помощью комбинации антител CD3 APC/CD4 FITC/CD8 PerCp/CD45RAPE-Cy7/CD45RO PE. Для исследования Т-регуляторных

клеток применяли коктейль антител CD4FITC/CD25PE-Cy7/CD127 APC. Для оценки субпопуляций Т-хелперов Th1, Th2, Th17, Th17.1 кровь инкубировали с антителами CD3 PerCp/CD4 FITC/CD196 BV421/CD183 PE в течение 30 мин при температуре 4 °С. После инкубации с антителами кровь лизировали раствором FACS Lysing в течение 10 мин, отмывали от лизирующего раствора буфером CellWash, образцы анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США) в программе FACSDiva 7.0. Все используемые наборы антител и растворы были от компании Becton Dickinson (США).

#### Анализ субпопуляций В-лимфоцитов

Для окрашивания В-лимфоцитов аликвоту цельной крови с ЭДТА (200–300 мкл) отмывали 3 раза буфером CellWash с добавлением 0,2%-ного бычьего сывороточного альбумина от иммуноглобулинов, неспецифически связывающихся с антителами. Отмытую кровь инкубировали с антителами в течение 15 мин в темноте при комнатной температуре. Для исследования В-лимфоцитов наивных и В-лимфоцитов памяти использовали комбинацию антител CD19 PC5 (Beckman Coulter, Франция)/CD27 PE (Becton Dickinson, США)/IgD FITC (Thermo Fisher, США)/IgM APC (Thermo Fisher, США). Транзиторные В-лимфоциты, плазмабласты и активированные В-лимфоциты оценивали с помощью комбинации антител CD19 PC5 (Beckman Coulter, Франция)/CD38 (Beckman Coulter, Франция) PE/CD21 FITC (Beckman Coulter, Франция)/IgM APC (Thermo Fisher, США). После инкубации с антителами все манипуляции проводились так же, как описано в предыдущем абзаце.

#### Статистический анализ

Статистический анализ выполняли в программе SPSS Statistics, версия 20 (IBM, США). Показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка. В случае нормального распределения использовали t-критерий Стьюдента, в случае распределения отличного от нормального U-критерий Манна–Уитни для независимых выборок. Для ROC-анализа и подсчета cut-off применяли программу easyROC a web-tool for ROC curve analysis, версия 1.3.1. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

#### Клиническая характеристика пациентов

Все 20 пациентов с СДД были подразделены на две группы: группа АО включала 8 пациентов, группа БАО — 12 пациентов. В таблице 1 пред-

ставлены демографические и основные клинические данные пациентов в обеих группах. Не было статистически значимых различий по полу и возрасту и по основным клиническим симптомам СДД: врожденные пороки сердца, неврологические осложнения, аномалии скелета и черепно-лицевые дисморфизмы, тяжелые инфекции (пневмонии). Однако у пациентов с АО была достоверно выражена лимфопролиферация (АО 50%, БАО 8,3%,  $p = 0,035$ ), которая проявлялась фолликулярной гиперплазией лимфоузлов, гепато и спленомегалией. В таблице 2 дана характеристика аутоиммунных осложнений у группы АО. АО были представлены хр. ИТП ( $n = 6/8$ ), нейтропенией ( $n = 3/8$ ), иммунной энтеропатией ( $n = 2/8$ ), ЮРА ( $n = 1/8$ ), АИГА ( $n = 2/8$ ) и ИБЛ ( $n = 2/8$ ).

#### Субпопуляции Т-лимфоцитов

Не было получено статистически значимых различий между абсолютным и относительным количеством CD3<sup>+</sup>Т-лимфоцитов, а также их основных субпопуляций CD4<sup>+</sup>Т-хелперов и CD8<sup>+</sup>Т-цитотоксических лимфоцитов у исследуемых групп пациентов. Анализ основных субпопуляций Т-хелперов также не выявил значимых различий между группами СДД с АО и БАО ( $p > 0,05$ ). Однако оценка дифференцировки Т-лимфоцитов по экспрессии маркеров CD45RA (наивные Т-клетки) и CD45RO (Т-клетки памяти) выявила статистически значимое снижение наивных CD4<sup>+</sup>, как по относительному (АО 20,9%, БАО 36,6%,  $p = 0,020$ ), так и по абсолютному количеству (АО 39,2, БАО 164,5,  $p = 0,025$ ) в группе пациентов с АО. Для наивных CD8<sup>+</sup> лимфоцитов не было получено статистически значимых различий между группами. CD4<sup>+</sup> памяти отличались только по относительному количеству (АО 73, 4%, БАО 57,8%,  $p = 0,034$ ), тогда как CD8<sup>+</sup> памяти, наоборот, были снижены в группе АО только по абсолютному количеству (АО 83,8, БАО 193,9,  $p = 0,002$ ) (рис. 1, 2).

Т-регуляторные клетки (Treg) по полученным данным были снижены в группе АО, как по относительному (АО 4,2%, БАО 6,7%,  $p = 0,020$ ), так и по абсолютному количеству (АО 12,8, БАО 31,1,  $p = 0,007$ ) (рис. 1, 2).

Проведенный ROC-анализ выявил, что наиболее диагностически и прогностически значимый показатель среди Т-лимфоцитов с высокой чувствительностью и специфичностью — это относительное количество CD45RA<sup>+</sup> наивных Т-клеток, cut-off по которому составил  $\leq 28,7\%$  (табл. 3).

#### Субпопуляции В-лимфоцитов

Комбинация антител, применяемая в нашем исследовании, позволила оценить несколько субпопуляций В-лимфоцитов, отражающих



ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ В ГРУППАХ АО И БАО

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS IN GROUPS AC AND nAC

|                                                                   | АО<br>AC        | БАО<br>nAC  | p     |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------|-------|
| <b>Пол (м/ж, %)</b><br>Sex (M/F, %)                               | 5/3 (62,5/37,5) | 6/6 (50/50) | 0,582 |
| <b>Возраст (г.)</b><br>Age (y)                                    | 13,3±2,7        | 12,30±2,06  | 0,473 |
| <b>Пороки сердца</b><br>Cardiopathy                               | 75%             | 83%         | 0,648 |
| <b>Неврологические осложнения</b><br>Neurological complications   | 62,5%           | 75%         | 0,550 |
| <b>Аллергии</b><br>Allergies                                      | 37,5%           | 8,3%        | 0,110 |
| <b>Тяжелые инфекции</b><br>Severe infections                      | 50%             | 42%         | 0,714 |
| <b>Лимфопролиферация</b><br>Lymphoproliferation                   | 50%             | 8,3%        | 0,035 |
| <b>Патология ЖКТ</b><br>Gastrointestinal anomalies                | 25%             | 25%         | 1,000 |
| <b>Аномалии скелета</b><br>Skeletal abnormalities                 | 50%             | 58%         | 0,714 |
| <b>Челюстно-лицевые дисморфизмы</b><br>Maxillofacial dysmorphisms | 62,5%           | 67%         | 0,848 |

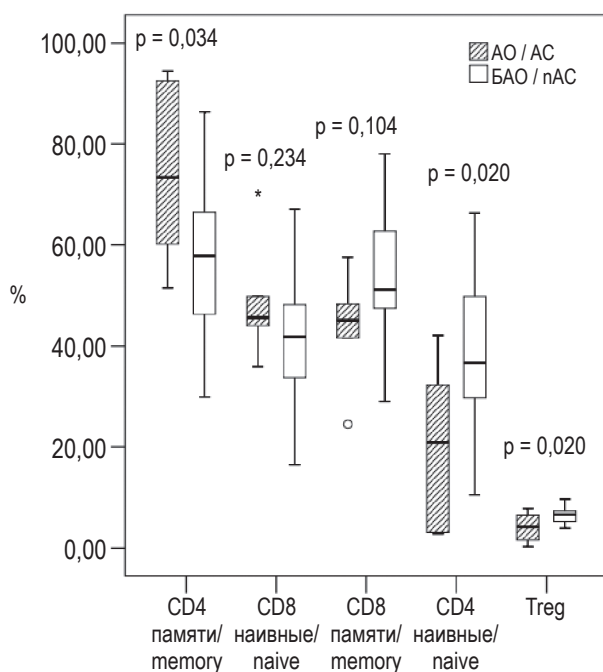


Рисунок 1. Субпопуляции Т-лимфоцитов, отн. количество

Figure 1. Subpopulations of T lymphocytes, rel. quantity

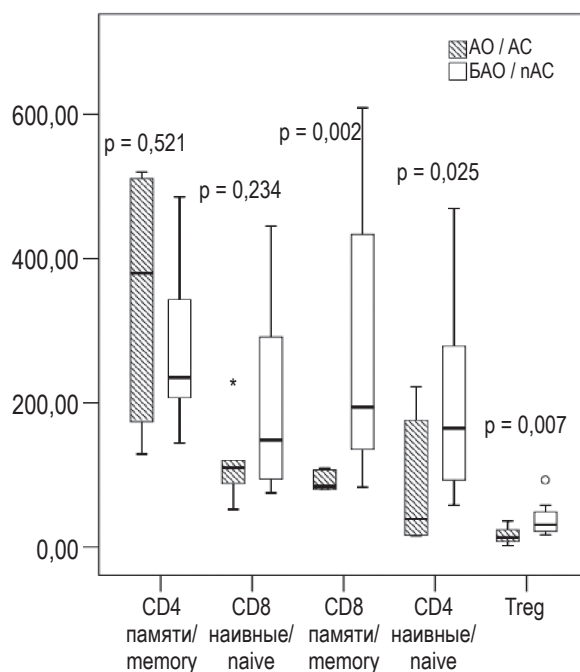


Рисунок 2. Субпопуляции Т-лимфоцитов, абс. количество (клетки/мкл)

Figure 2. Subpopulations of T lymphocytes, abs. quantity (cells/μL)

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА АУТОИММУННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

TABLE 2. CHARACTERISTICS OF AUTOIMMUNE COMPLICATIONS

| Пациент<br>Patients | Возраст (годы)<br>Age (y) | Пол (М/Ж)<br>Sex (M/F) | Аутоиммунные осложнения<br>Autoimmune complications                          |
|---------------------|---------------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 1                   | 17                        | М<br>M                 | Хр. ИТП<br>ITP                                                               |
| 2                   | 12                        | Ж<br>F                 | Нейтропения, Хр. ИТП, ИБЛ<br>Neutropenia, ITP, ILD                           |
| 3                   | 14                        | М<br>M                 | НЯК, Хр. ИТП<br>NUC, ITP                                                     |
| 4                   | 14                        | Ж<br>F                 | Хр. ИТП, Нейтропения, АИГА, ИБЛ<br>ITP, Neutropenia, AIHA, ILD               |
| 5                   | 13                        | М<br>M                 | Хр. ИТП<br>ITP                                                               |
| 6                   | 17                        | М<br>M                 | Хр. ИТП, нейтропения, АИГА<br>ITP, Neutropenia, AIHA                         |
| 7                   | 10                        | Ж<br>F                 | ЮРА<br>JRA                                                                   |
| 8                   | 10                        | М<br>M                 | Иммунная энтеропатия,<br>б-нь Крона?<br>Immune enteropathy, Crohn's disease? |

Примечание. Хр. ИТП – хроническая иммунная тромбоцитопения, НЯК – неспецифический язвенный колит, ИБЛ – интерстициальная болезнь легких, ЮРА – ювенильный ревматоидный артрит, АИГА – аутоиммунная гемолитическая анемия.

Note. ITP, chronic immune thrombocytopenia; NUC, nonspecific ulcerative colitis; ILD, interstitial lung disease; JRA, juvenile rheumatoid arthritis; AIHA, autoimmune hemolytic anemia.

различные стадии их дифференцировки. С помощью дифференциальной экспрессии молекул CD27 и IgD выявляли В-клетки памяти ( $CD19^+CD27^+$ ), непереключенные В-клетки памяти ( $CD19^+IgD^+CD27^+$ ), переключенные В-клетки памяти ( $CD19^+IgD^-CD27^+$ ), двойные негативные клетки памяти ( $CD19^+IgD^-CD27^-$ ) и клетки памяти, продуцирующие только IgM (IgM only).

У пациентов с АО было выявлено снижение относительного (АО 16,5%, БАО 23,1%,  $p = 0,053$ ) и абсолютного количества В-лимфоцитов (АО 189,1, БАО 377,8,  $p = 0,020$ ). В-клетки памяти также были значимо снижены по относительному (АО 6,8%, БАО 14,2%,  $p = 0,031$ ) и абсолютному количеству (АО 10,8, БАО 65,3,  $p = 0,005$ ). Для переключенных В-клеток памяти была характерна та же тенденция: (АО 3,2%, БАО 8,0%  $p = 0,016$ ) и (АО 5,8, БАО 33,5,  $p = 0,031$ ), тогда как непереключенные В-клетки памяти демонстрировали статистически значимое снижение только по абсолютному количеству (АО 5,8, БАО 29,3,  $p = 0,022$ ) (рис. 3, 4). IgM only В-клетки не отличались у этих групп пациентов (АО 20,2%, БАО 18,9%,  $p = 0,592$ ).

Транзиторные В-лимфоциты ( $CD19^+IgM^{high}CD38^{high}$ ) и плазмобласты ( $CD19^+IgM^-CD38^{high}$ ) оценивали по разному уровню экспрессии поверхностного

IgM. У пациентов с АО наблюдалось повышение относительного количества транзиторных В-лимфоцитов (АО 13,8%, БАО 5,9%,  $p = 0,003$ ) (рис. 3, 4), тогда как по уровню плазмобластов расхождений между группами не было (АО 1,0%, БАО 0,7%,  $p = 0,340$ ). Не было получено различий между группами также по количеству активированных В-лимфоцитов, которые оценивали по экспрессии маркеров  $CD21^{low}CD38^{low}$  (АО 5,3%, БАО 4,7%,  $p = 0,837$ ).

Среди субпопуляций В-лимфоцитов, статистически значимо отличающихся между группами, наиболее прогностически значимыми показателями по нашим данным оказались относительное ( $cut-off \leq 5,0\%$ ) и абсолютное количество ( $cut-off \leq 11$ ) переключенных В-клеток памяти и относительное количество транзиторных В-клеток ( $cut-off \geq 12,9\%$ ) (табл. 3).

В данном исследовании мы сфокусировались на состоянии субпопуляций лимфоцитов у пациентов с СДД с АО. Мы включили в исследование группу пациентов старшего возраста от 10 до 18 лет, в которой было больше пациентов с АО, чем в младших возрастных группах. В этой группе было 8 пациентов с различными АО, с преобладанием хр. ИТП (6 пациентов из 8), которая является самым частым АО при СДД [4, 9]. В половине случаев хр. ИТП сочеталась с

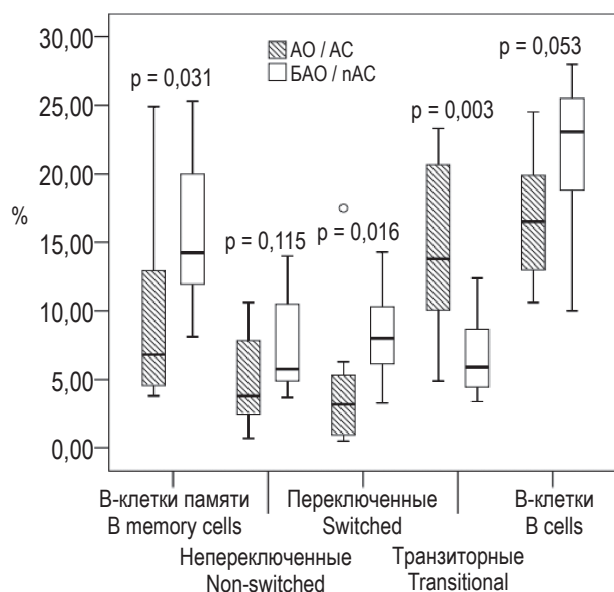


Рисунок 3. Субпопуляции В-лимфоцитов, отн. количество  
Figure 3. Subpopulations of B lymphocytes, rel. quantity

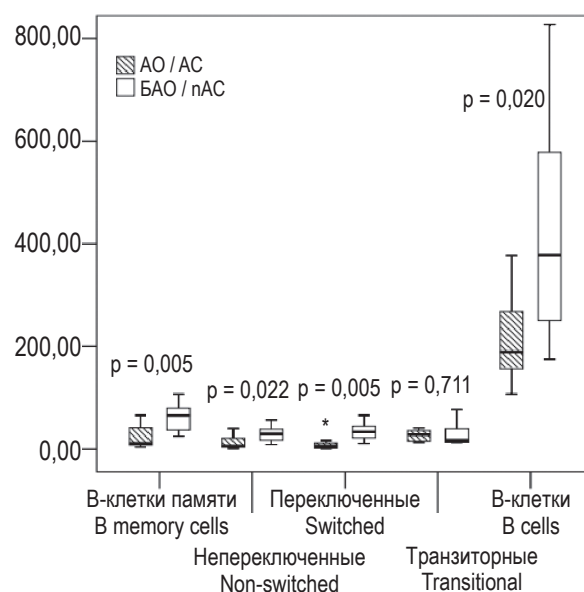


Рисунок 4. Субпопуляции В-лимфоцитов, абс. количество (клетки/мкл)  
Figure 4. Subpopulations of B lymphocytes, abs. quantity (cells/ $\mu$ L)

ТАБЛИЦА 3. РОС-АНАЛИЗ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ

TABLE 3. ROC ANALYSIS OF LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS

| Субпопуляции<br>Subpopulations                                          | Cut-off | Чувстви-<br>тельность, %<br>Sensitivity, % | Специфич-<br>ность, %<br>Specificity, % | Диагностическая<br>эффективность, %<br>Accuracy, % | AUC   | p       |
|-------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------|-------|---------|
| Т-хелперы наивные, %<br>T helper naïve, %                               | 28,7    | 83,3                                       | 75,0                                    | 79,1                                               | 0,791 | 0,007   |
| Т-хелперы наивные, абс.<br>T helper naïve, abs.                         | 58      | 100                                        | 62,5                                    | 81,2                                               | 0,802 | 0,006   |
| Treg, %                                                                 | 4,6     | 91,7                                       | 62,5                                    | 77,1                                               | 0,750 | 0,049   |
| Treg, абс.<br>Treg, abs.                                                | 17      | 100                                        | 62,5                                    | 81,2                                               | 0,854 | 0,0002  |
| В-клетки, %<br>B cells, %                                               | 21,0    | 66,7                                       | 87,5                                    | 77,1                                               | 0,771 | 0,012   |
| В-клетки, абс.<br>B cells, abs.                                         | 298     | 75,0                                       | 87,5                                    | 81,25                                              | 0,843 | 0,0001  |
| В-клетки памяти, %<br>B memory cells, %                                 | 10,1    | 91,7                                       | 62,5                                    | 77,1                                               | 0,786 | 0,022   |
| В-клетки памяти, абс.<br>B memory cells, abs.                           | 25      | 100                                        | 62,5                                    | 81,25                                              | 0,859 | < 0,001 |
| В-клетки памяти<br>непереключенные, абс.<br>B memory non-switched, abs. | 9       | 100                                        | 62,5                                    | 81,25                                              | 0,812 | 0,006   |
| В-клетки памяти<br>переключенные, %<br>B memory switched, %             | 5,0     | 91,7                                       | 75,0                                    | 83,3                                               | 0,823 | 0,010   |
| В-клетки памяти<br>переключенные, абс.<br>B memory switched, abs.       | 11      | 100                                        | 75,0                                    | 87,5                                               | 0,864 | 0,0015  |
| В-клетки наивные, %<br>B naïve cells, %                                 | 86,4    | 75,0                                       | 91,7                                    | 83,3                                               | 0,802 | 0,013   |
| В-клетки наивные, абс.<br>B naïve cells, abs.                           | 240     | 66,7                                       | 87,5                                    | 77,1                                               | 0,770 | 0,014   |
| В-клетки транзиторные, %<br>B transitional cells, %                     | 12,9    | 71,4                                       | 100                                     | 85,7                                               | 0,869 | 0,0001  |

другими АО: нейтропения, ИБЛ, НЯК. А у двух пациентов наблюдались отдельно ЮРА и неуточненная иммунная энтеропатия. Клинически пациенты с АО почти ничем не отличались от пациентов без АО, кроме выраженной лимфо-пролиферации, связанной, по всей видимости, с развитием аутоиммунного процесса. Наши исследования выявили, что пациенты с АО имеют специфические изменения в субпопуляциях Т- и В-лимфоцитов. Мы не нашли отличий по основным субпопуляциям Т-лимфоцитов (Т-хелперы и Т-цитотоксические), которые снижены у пациентов с СДД, и по субпопуляциям Т-хелперов [1, 15, 18, 19], но нашли статистически значимые различия по наивным  $CD4^+CD45RA^+$ , которые подтверждаются предыдущими исследованиями [4, 13]. Также нами было получено значимое снижение Treg. Наши данные подтверждают, что гипоплазия тимуса у больных с СДД, с которой связан низкий выход наивных Т-лимфоцитов, Treg, редуцированный репертуар Т-клеточного рецептора, гомеостатическая пролиферация Т-лимфоцитов на периферии, неполная негативная селекция в тимусе является причиной развития АО [2, 6, 19].

Иммунофенотипические изменения не ограничиваются только субпопуляцией Т-лимфоцитов. Мы наблюдали значительное снижение В-лимфоцитов, В-клеток памяти и переключенных В-клеток памяти у пациентов с АО. Переключенные В-клетки памяти являются тимус-зависимыми, т. е. они созревают в герминальных центрах лимфоузлов при тесном взаимодействии с фолликулярными Т-лимфоцитами. По данным некоторых источников у больных с СДД наблю-

дается дисфункция фолликулярных Т-клеток, которая, возможно, и является причиной нарушения дифференцировки В-клеток памяти. Особенно выражены такие нарушения у взрослых пациентов [5, 8]. Кроме того, по нашим данным у пациентов с АО значимо повышено относительное количество транзиторных В-лимфоцитов и не наблюдается повышения активированных  $CD21^{low}CD38^{low}$  В-лимфоцитов, часто ассоциирующегося с АО [16].

## Заключение

Важным результатом нашего исследования является оценка прогностических изменений в иммунном статусе у пациентов с СДД. Наиболее значимыми субпопуляциями для прогноза развития АО по нашим данным являются наивные Т-лимфоциты, переключенные В-клетки памяти и транзиторных В-лимфоциты. Данные ниже cut-off по наивным Т-лимфоцитам и переключенным В-клеткам памяти и выше cut-off по транзиторным клеткам у больных с СДД с большой долей вероятности могут свидетельствовать об угрозе возникновения АО. В исследовании D. Montin и соавт. [8] показано, что аномалии в субпопуляциях лимфоцитов у пациентов с СДД появляются перед дебютом гематологических АО, таких как хр. ИТП и АИГА. Поэтому необходимо систематическое иммунофенотипирование пациентов с этим диагнозом, чтобы выявить пациентов с риском развития АО.

Наши данные подтверждают критическую роль иммунофенотипирования лимфоцитов в прогнозировании тяжелых АО у пациентов с СДД.

## Список литературы / References

1. Швец О.В., Давыдова Н.В., Зимин С.Б., Котлукова Н.П., Бочарова К.А., Продеус А.П., Щербина А.Ю. Клинические и лабораторные проявления дефектов иммунной системы у пациентов синдромом DEL22Q11.2 (Синдром Ди Джорджи) // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2013. Т. 12, № 4 С. 23-30. [Shvets O.V., Davydova N.V., Zimin S.B., Kotlukova N.P., Bocharova K.A., Prodeus A.P., Shcherbina A. Clinical and laboratory manifestations of immune system defects in patients with DEL22Q11.2 syndrome (DiGeorge Syndrome). *Voprosy gematologii, onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology / Oncology and Immunopathology*, 2013, Vol. 12, no. 4, pp. 23-30. (In Russ.)]
2. Borna S., Dejene B., Lakshmanan U., Schulze J., Weinberg K., Bacchetta R. Analyses of thymocyte commitment to regulatory T cell lineage in thymus of healthy subjects and patients with 22q11.2 deletion syndrome. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 8, no. 14, 1088059. doi: 0.3389/fimmu.2023.1088059.
3. Botto L.D., May K., Fernhoff P.M., Correa A., Coleman K., Rasmussen S.A., Merritt R.K., O'Leary L.A., Wong L., Elixson E.M., Mahle W.T., Campbell R.M. A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects study in the population. *Pediatrics*, 2003, Vol. 112, no. 1, pp. 101-107.
4. Crowley T.B., Campbell I.M., Liebling E.J., Lambert M.P., Levitt Katz L.E., Heimall J., Bailey A., McGinn D.E., McDonald McGinn D.M., Sullivan K.E. Distinct immune trajectories in patients with chromosome 22q11.2 deletion syndrome and immune-mediated diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2022, Vol. 153, no.1, pp. 445-450.



5. Derfalvi B., Maurer K., McDonald McGinn D.M., Zackai E., Meng W., Luning Prak E.T., Sullivan K.E. B cell development in chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Clin. Immunol.*, 2016, Vol. 163, pp. 1-9.
6. Di Cesare S., Puliafito P., Ariganello P., Marcovecchio G.E., Mandolesi M., Capolino R., Digilio M.C., Aiuti A., Rossi P., Cancrini C. Autoimmunity and regulatory T cells in 22q11.2 deletion syndrome patients. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2015, Vol. 26, no. 6, pp. 591-594.
7. Giardino G., Radwan N., Koletsi P., Morrogh D.M., Adams S., Ip W., Worth A., Jones A., Parsonson I.M., 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 center. *Blood*, 2019, Vol. 133, pp. 2586-2596.
8. 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, Vol. 23, no. 9, 1730. doi: 10.3389/fimmu.2018.01730.
9. Lambert M.P., Aruselman A., Schott A., Markham S.J., Crowley T.B., Zackai E.H., McDonald-McGinn M.D. The 22q11.2 deletion syndrome: Cancer predisposition, platelet abnormalities and cytopenias. *Am. J. Med. Genet. A*, 2018, Vol. 176, no.10, pp. 2121-2127.
10. Lin H.Y., Tsai W.Y., Tung Y.C., Liu S.Y., Lee N.C., Chien N.H., Hwu W.L., Lee C.T. Endocrine and growth disorders in taiwanese children with 22q11.2 Deletion syndrome. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2022, Vol. 31, no. 13, 771100. doi: 10.3389/fendo.2022.771100.
11. McDonald-McGinn D.M., Zackai E.H. Genetic counseling for the 22q11.2 deletion. *Dev. Disabil. Res. Rev.*, 2008, Vol. 14, pp. 69-74.
12. McDonald-McGinn D.M., Sullivan K.E., Marino B., Philip N., Swillen A., Vorstman J., Zackai E.H., Emanuel B.S., Vermeesch J.R., Morrow B.E., Scambler P.J., Bassett A.S. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2015, Vol. 1, 15071. doi: 10.1038/nrdp.2015.71.
13. Montin D., Marolda A., Licciardi F., Robasto F., Di Cesare S., Ricotti E., Ferro F., Scaioli G., Giancotta C., Amodio A., Conti F., Giardino G., Leonardi L., Ricci S., Volpi S., Baselli L.A., Azzari C., Bossi G., Consolini R., Deppeliane R.M., Duse M., Gattorno M., Martire B., Putti M.C., Soresina A., Pebani A., Ramenghi U., Martino S., Pignata C., Cancrini C. Immunophenotype anomalies predict the development of autoimmune cytopenia in 22q11.2 Deletion syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2019, Vol. 7, no. 7, pp. 2369-2376.
14. Salehzadeh F., Bagheri A. Association of juvenile idiopathic arthritis and digeorge syndrome; a case report. *Iran J. Pediatr.*, 2014, Vol. 24, no. 3, pp. 334-336.
15. Smetanova J., Milota T., Rataj M., Bloomfield M., Sediva A., Adam Klocperk A. Accelerated Maturation, Exhaustion, and Senescence of T cells in 22q11.2 Deletion Syndrome. *J. Clin. Immunol.*, 2022, Vol. 42, no. 2, pp. 274-285.
16. Thorarinsdottir K., Camponeschi A., Gjertsson I., Mårtensson I-L. CD21-/low B cells: A snapshot of a unique B cell subset in health and disease. *Scand. J. Immunol.*, 2015, Vol. 82, no 3, pp. 254-261.
17. Uy R., Jacobs N., Mziray-Andrew C. Inflammatory bowel disease and diverticulosis in an adolescent with digeorge syndrome. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2016, Vol. 62, no. 5, pp. 43-45.
18. Vergaelen E., Schiweck C., van Steeland K. A pilot study on immuno-psychiatry in the 22q11.2 deletion syndrome: A role for Th17 cells in psychosis? *Brain Behav. Immun.*, 2018, Vol. 70, pp. 88-95.
19. Zemble R., Luning Prak E., McDonald K., McDonald-McGinn D., Zackai E., Sullivan K. Secondary immunologic consequences in chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 136, pp. 409-418.

---

**Авторы:**

**Давыдова Н.В.** — к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики лабораторно-диагностического отделения ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

**Зиновьева Н.В.** — к.м.н., врач — аллерголог-иммунолог, заведующая отделением аллергологии и иммунологии № 1 ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

**Зимин С.Б.** — врач-педиатр, заведующий педиатрическим соматическим отделением ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

**Швец О.В.** — к.м.н., врач-педиатр, заместитель главного врача поликлиники № 3 АО «Семейный доктор», Москва, Россия

**Галеева Е.В.** — биолог, заведующая лабораторно-диагностическим отделением ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

---

**Authors:**

**Davydova N.V.**, PhD (Medicine), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics of the Laboratory Diagnostic Department, G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Zinovieva N.V.**, PhD (Medicine), Allergist-Immunologist, Head of the Department of Allergy and Immunology No. 1, G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Zimin S.B.**, Pediatricist, Head of the Pediatric Somatic Department, Morozov City Children's Hospital, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Shvez O.V.**, PhD (Medicine), Pediatricist, Deputy Chief Physician, Polyclinic No. 3 of JSC "Family Doctor", Moscow, Russian Federation

**Galeeva E.V.**, Biologist, Head of the Laboratory Diagnostic Department, G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Конопляникова Ю.Е.** — к.м.н., врач — аллерголог-иммунолог, заведующая Центром аллергологии и иммунологии ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

**Молочникова О.В.** — врач-педиатр Консультативно-диагностического центра ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

**Петрова Ю.В.** — врач-педиатр отделения аллергологии и иммунологии № 1 ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

**Гильдеева Г.Н.** — д.фарм.н., профессор, заведующая кафедрой организации и управления в сфере обращения лекарственных средств ИПО ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

**Козлов И.Г.** — д.м.н., профессор кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств ИПО ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

**Konoplyannikova Yu.E.**, PhD (Medicine), Allergist-Immunologist, Head of the Center for Allergology and Immunology, G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Molochnikova O.V.**, Pediatricist of the Consultative and Diagnostic Center, G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Petrova Yu.V.**, Pediatricist of the Department of Allergology and Immunology No. 1, G. Speransky City Children's Hospital No. 9, Department of Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

**Gildeeva G.N.**, MD, PhD (Pharmaceutics), Professor, Head of the Management and Organization of Drug Supply Chair, IPDE, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

**Kozlov I.G.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Management and Organization of Drug Supply Chair, IPDE, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Поступила 08.04.2024  
Отправлена на доработку 09.04.2024  
Принята к печати 12.04.2024

Received 08.04.2024  
Revision received 09.04.2024  
Accepted 12.04.2024