

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

ПЕРВИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ

ИММУННЫЙ СТАТУС, ИММУНОКОРРЕКЦИЯ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ ФУРУНКУЛЕЗЕ

Гурина О.П., Блинов А.Е., Варламова О.Н.,
Дементьева Е.А., Тимохина В.И.

Государственная педиатрическая медицинская
академия, Санкт-Петербург, Россия

Фурункулёз — глубокая стафилодермия, характеризующаяся гнойно-некротическим воспалением волосяного фолликула и окружающей ткани с самоограничивающимся характером. Рецидивирование фурункулеза связано в первую очередь с дисфункцией иммунной системы, обусловленной как факторами патогенности стафилококка (гемолизины, хлопьеобразующий фактор), так и индивидуальными особенностями организма (сопутствующие заболевания, гормональный дисбаланс). Поэтому наряду с хирургической и антибактериальной санацией очага требуется проведение соответствующей иммунореабилитации.

Цель работы: исследование иммунного статуса, выявление причин рецидивирования фурункулеза, подбор эффективной иммуномодулирующей терапии.

Под наблюдением находились 24 пациента в возрасте от 9 до 25 лет, страдающих рецидивирующим фурункулезом, получившие антибактериальную терапию, УФО крови. Исследование иммунного статуса осуществлялось иммунологическими тестами I уровня. Концентрация С3, С4 компонентов системы комплемента определялась ИФА (ИФТС «Цитокин»). Статистическая обработка проводилась параметрическими методами.

У всех обследованных выявлен дисбаланс в иммунной защите организма. Дисиммуноглобулинемия (ДИГ) различных типов отмечалась в 62,5% случаев, все обнаруженные типы ДИГ включают в себя дефицит IgA (ДИГ 1, 2, 4, 8 типов). При этом гипоиммуноглобулинемия А коррелирует с незавершенностью фагоцитоза ($r = -0,32$). Сочетание ДИГ с недостаточностью клеточной эффекторной системы приводит к хроническому или рецидивирующему течению фурункулеза. Гипериммуноглобулинемия М, свидетельствующая о способности к адекватному раннему гуморальному иммунному ответу, встречается у 25% пациентов, однако у 12,5% обследованных такая способность отсутствует, что приводит к длительному течению каждого эпизода заболевания. Гипоиммуноглобулинемия М коррелирует с высокой фагоцитарной активностью лейкоцитов крови ($r = -0,4$), которые, по-видимому, компенсируют недостаточную гуморальную защиту, но фагоцитоз при этом остается незавершенным (патогенное действие стафилококка). Гипо- и гипериму-

ноглобулинемия G встречаются приблизительно с равной частотой (20,8 и 16,7% соответственно), т.е. способность к реконвалесценции выражена неоднозначно. Выявлена прямая умеренная корреляционная связь между содержанием IgG и С3 компонентом комплемента ($r = 0,4$) — основными опсонизирующими агентами. Гиперкомплементемия С3 обнаружена у 18,2% обследованных, гипокompлементемия С3 — у 27,3%. Низкий уровень С3 сочетался с дефектом фагоцитоза ($r = -0,3$). Уровень С4 компонента системы комплемента у 40% больных был высоким и сочетался с высокой фагоцитарной активностью ($r = 0,72$) и низким фагоцитарным числом ($r = -0,5$ и $-0,9$), т.е. с завершенностью фагоцитоза. Таким образом, активация системы комплемента по классическому пути, а также нормальная продукция IgG обуславливают опсонизирующие возможности сыворотки крови пациента, эффективный фагоцитоз и выздоровление. Исследование клеточного иммунного ответа показало наличие признаков Т-лимфопении и В-лимфоцитоза более чем у половины обследованных. При этом гипериммуноглобулинемия М при недостатке Т-клеточной активности в острый период заболевания может быть связана с ответом В-клеток на тимуснезависимые антигены стафилококка. В то же время для сбалансированной продукции разных классов антител необходимо участие в иммунном ответе Т-хелперных клеток. У 29,2% обследованных пациентов уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови превышал нормальное значение и коррелировал с гиперкомплементемией С3.

Не отмечена положительная динамика течения рецидивирующего фурункулеза при применении только хирургической, антибактериальной терапии и УФО крови. Обнаруженные изменения в иммунном статусе приводят к необходимости использования иммунокоррекции наряду с традиционной терапией. Всем пациентам проводилась следующая схема лечения: липопид (в дозировке 10 мг, 1 раз в сутки, курс 10 дней); капли Береша (расчет по массе тела, в течение 2 месяцев); иммунал (в возрастной дозировке 3 раза в сутки, 6 недель); витаминотерапия (поливитамин в возрастной дозировке в течение 1 месяца). Одновременно давались рекомендации относительно санитарно-гигиенических мероприятий, направленных на прерывание путей распространения стафилококка (дезинфекция предметов обихода, качественная уборка помещений). В результате у всех больных получен удовлетворительный клинический эффект (от удлинения интервалов между рецидивами, более легкого протекания каждого эпизода, до полного выздоровления).

СЛОЖНОСТИ ИНДЕНТИФИКАЦИИ РЕДКИХ ФОРМ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ. КОЖНО-ГЛАЗНАЯ ФОРМА АЛЬБИНИЗМА С ПЕРВИЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

Гусева М.Н.¹, Кожевников А.Н.¹, Калашникова О.В.¹, Ларионова В.И.¹, Матвеева Е.Л.¹, Бычкова Н.В.², Давыдова Н.И.², Соколова Н.Е.³

¹ Клиника ГОУ ВПО СПб ГПМА, Санкт-Петербург, Россия

² ВЦЭРМ МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

³ ДГБ № 1, Санкт-Петербург, Россия

Кожно-глазная форма альбинизма может сопровождать ряд тяжелых редко встречающихся иммунодефицитных состояний, таких как Chediak-Higashi syndrome, Griscelli syndrome, может встречаться при Hermansky-Pudlak syndrome и ряде других редко встречающихся врожденных заболеваний.

В феврале 2009 года в Клинику ГОУ ВПО СПб ГПМА поступил 15-летний мальчик с жалобами на лихорадку в течение недели и увеличение шейных лимфатических узлов.

Объективно: низкорослый, тяжелая форма диспластического сколиоза, широкая переносица, крупные ноздри. Диспропорциональные части тела, крупная голова. Речь несколько замедленная. Парциальная форма альбинизма, с островковыми участками пигментаций по типу невусов. Фон кожи сухой, истощен. Волосы крайне светлые, очаги аллопеции на волосистой части головы после перенесенного фурункулеза, цвет радужки светло-голубой, горизонтальный нистагм, сохраняется болезненность при смотре на свет. Слизистые чистые, язык крупный с трещинами, налетов нет. Увеличен предншейный верхний лимфоузел 4,0 x 4,5 см, чувствительный при пальпации, без флюктуации, увеличены заднешейные л/у по типу пакетов, диаметром до 2,0 см, преимущественно слева. Пальпируются подчелюстные, подмышечные л/у, печень +4,0 селезенка +8,0, плотный край, малоподвижна.

Изучение семейного анамнеза ребенка совместно с группой из молекулярно-генетической лаборатории ГОУ ВПО СПб ГПМА выявило, что ребенок рожден в близкородственном браке, имеются множественные случаи смертей детей в раннем возрасте по линии матери, аутосомно-рецессивное наследование кожно-глазной формы альбинизма по линии отца, сочетающееся со смертью от инфарктов миокарда в среднем возрасте.

Из анамнеза известно, что ребенок родился от 1-й беременности, с рождения отмечается очень светлая кожа, крайне светлые волосы, фотобоязнь. В 2 месяца перенес БЦЖит. На первом году жизни переносит тяжелое гнойно-септическое поражение кожи, сепсис, двустороннюю сливную пневмонию, осложненную ателектазом, средний отит. В анализах крови появляется тенденция к нейтропении. С 2-летнего возраста — отставание в ПМР. Явления гепатоспленомегалии впервые описаны с 10-месячного возраста, усугубились с 4-летнего возраста. Ребенок наблюдался у гематолога в связи с выраженной лейко-нейтропенией, анемией. Отмечались тяжелые эпизоды обильных носовых кровотечений, приводящие к резкому падению уровня гемоглобина. В дальнейшем в клинике преобладают рецидивирующие пневмонии,

лимфадениты шейной области, тяжелые фурункулезы, периодонтит.

При оценке гематологических анализов, сделанных в жизни ребенка, обратило на себя внимание отсутствие каких-либо специфических гранул в лейкоцитах периферической крови.

При нахождении ребенка в клинике в гематологических анализах отмечалась выраженная лейкопения ($0,8-1,2 \times 10^9/\text{л}$), абсолютная нейтропения ($10-50$ клеток), анемия ($95-103 \text{ г/л}$), ускоренное СОЭ ($50-58 \text{ мм/час}$), признаки выраженного воспалительного процесса по данным биохимических показателей (СРБ- $135-157 \text{ мг/л}$).

В иммунологическом обследовании снижение абсолютного количества CD3^+ клеток, CD4^+ клеток, $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ клеток, значительное снижение NK-клеток $\text{CD3}^+\text{16}^+$ и активированных NK-клеток, снижение функциональной способности Т-лимфоцитов в РБТЛ, значительное повышение сывороточных иммуноглобулинов классов G и A.

При обследовании была проведена пункция костного мозга. По результатам проведенной пункции костного мозга в миелограмме резко снижена клеточность, миелоидный росток истощен, явления дизгранулоцитопоза, эритроидный росток расширен, явления дизэритроцитопоза, вырожденная макрофагальная реакция, плазмоклеточные реакции.

Ребенок получил комплексную антибактериальную, противовирусную и противогрибковую терапию. Биопсия лимфатического узла позволила выявить лимфогрануломатоз и начать специфическую терапию.

Клинико-лабораторные данные у этого пациента являются примером сложного случая идентификации диагноза первичного иммунодефицита. У данного пациента можно было заподозрить наличие редко встречающегося синдрома Griscelli.

В Центре молекулярной генетики г. Москвы было проведено генетическое исследование гена RAB27A. Методом прямого автоматического секвенирования исследована вся кодирующая последовательность гена RAB27A, включая области экзон-интронных соединений. Мутации не обнаружено.

Лечение и дальнейшее обследование данного пациента будет продолжено.

СЛУЧАЙ ВИСКОТТ–ОЛДРИЧА СИНДРОМА У 7-МЕСЯЧНОГО РЕБЕНКА

Прокофьева Т.Е., Ковалева Ж.

Детская клиническая университетская больница, г. Рига, Латвия

Вискотт–Олдрича синдром (WAS) — редкое, первичное X-сцепленное рецессивное иммунодефицитное заболевание, вызываемое мутацией в WAS гене, клинически проявляющееся экземой, тромбоцитопенией, а также сниженной резистентностью к инфекциям. Частота встречаемости — $0,4-1$ на $100\,000$ новорожденных.

Ребенок мужского пола родился в апреле 2006 года от 1-й нормальной физиологической, доношенной беременности, от здоровых родителей. На 8-й неделе беременности мать лечилась по поводу угрозы выкидыша. В родильном доме мальчик лечился в связи с внутриутробной

инфекцией (зеленые околоплодные воды, низкий уровень тромбоцитов (Тр.) $-64 \times 10^9/\text{л}$). После кардинального лечения ле антибактериальной терапией уровень Тр. повысился до $113 \times 10^9/\text{л}$. В возрасте 1 месяца — эпизод жидкого стула с примесью крови, Тр. $43 \times 10^9/\text{л}$. С 1,5-месячного возраста — экзема в области лица и конечностей, осложняемая периодически вторичным инфицированием, аллергия на белок коровьего молока. В возрасте с 5 до 7 месяцев ребенок был госпитализирован в онкогематологическое отделение ДКУБ в связи с прогрессирующей тромбоцитопенией ($95-60-21 \times 10^9/\text{л}$), геморрагическим синдромом (петехии на коже, конъюнктиве), железодефицитной анемией (ГБ $9,6 \text{ г/дл.}$), экземой. Во время госпитализации отмечались эпизоды инфекций (гнойный отит, блефароконъюнктивит, пиодермия). По клинической картине был предположен WAS. Лабораторные исследования: минимальный уровень Тр. $18 \times 10^9/\text{л}$, размер Тр. уменьшен минимально ($6,5 \text{ фл.}$). Повторные биопсии костного мозга — неспецифические изменения. Изменения в иммунограмме неубедительны: IgM $0,18-0,33 \text{ г/л}$, IgA $0,5-0,7 \text{ г/л}$, IgG $5,1-8,9 \text{ г/л}$. Отмечалось снижение CD8^+ Т-лимфоцитов (10-7%), повышение CD16^+ лимфоцитов (23%) и IgE ($61-46 \text{ МЕ/мл}$). Положительные антитромбоцитарные и антикардиолипидные антитела. Образцы крови мальчика и его матери были направлены в J. Modell Диагностический центр по первичным иммунодефицитам в г. Дебрецен (Венгрия). При генетическом обследовании была найдена с.631C > T nonsense мутация в 7 экзоне WAS гена, приводящая к стоп-кодону WASP в 211 позиции аминокислот (p.R211X). Обследование матери ребенка выявило гетерозиготное носительство данной мутации.

С февраля по апрель 2007 года (с 10-месячного до 12-месячного возраста) у ребенка длительная диарея с потерей веса, лихорадка, гнойный отит, бронхит, выраженная экзема. Нарастает IgE до $593-1250 \text{ МЕ/мл}$. Минимальный уровень Тр. $28 \times 10^9/\text{л}$.

В июле 2007 года (в возрасте 1 года 3 месяцев) в St. Lazslo госпитале (г. Будапешт, Венгрия) проведена успешная ТКМ от HLA-идентичного неродственного донора. Через полтора года после ТКМ ребенок практически не болеет, незначительные проявления дерматита только в области мошонки. Размер (MPV $8,7 \text{ fl}$) и количество Тр. ($474 \times 10^9/\text{л}$) — нормальные. Появилась положительная Р-ANCA (МРО-отрицат.).

Заключение. Данный случай демонстрируется как результат успешного международного сотрудничества, позволивший своевременно диагностировать и провести кардинальное лечение первого в Латвии случая Вискотт—Олдрича синдрома.

ДНК-ДИАГНОСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ У РОССИЙСКИХ БОЛЬНЫХ

Сермягина И.Г., Забненкова В.В., Поляков А.В.

ГУ «Медико-генетический научный центр РАМН», Москва, Россия

Введение. Первичные иммунодефициты (ПИД) — это наследственные заболевания, обусловленные грубым нарушением функций различных звеньев иммунитета. Частота встречаемости в зависимости от формы составляет от 1:500 до 1:200 000. ПИД являются результатом генетических дефектов, приводящих к нарушению пролиферации, дифференцировки и функций иммунокомпетентных клеток. Типичными проявлениями первичных иммунодефицитных состояний являются тяжело протекающие инфекции (вирусные, грибковые и бактериальные), аутоиммунные нарушения и высокая вероятность развития злокачественных новообразований. Первичные иммунодефициты подразделяются на четыре основных категории: преимущественно гуморальные нарушения (50%), комбинированные (Т- и В-клеточные) (30%), дефекты фагоцитоза (18%) и комплемента (2%). Наиболее часто встречаются X-сцепленные формы врожденных иммунодефицитов. В лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ РАМН разработаны методики выявления молекулярных причин таких заболеваний, как:

X-сцепленный гипер-IgM синдром (ген *CD40LG*);

X-сцепленная агаммаглобулинемия (ген *BTX*);

X-сцепленный тяжелый комбинированный иммунодефицит (ген *IL2RG*);

X-сцепленная хроническая гранулематозная болезнь (ген *CYBB*);

X-сцепленный лимфопролиферативный синдром (ген *SH2D1A*);

X-сцепленный синдром Вискота—Олдрича (ген *WAS*).

Цель и задачи. Целью настоящей работы является проведение прямой ДНК-диагностики различных форм первичных иммунодефицитов и разработка наиболее эффективных алгоритмов регистрации мутаций для выполнения пренатальной диагностики.

Материалы и методы. Материалом для исследования являются образцы ДНК, выделенные из крови или других биологических объектов (ногти, парафиновые блоки, гематологические мазки и др.), пробандов и членов их семей. Методы, используемые для молекулярно-генетического анализа ПИД: ПЦР; SSCP; прямое автоматическое секвенирование; ПДРФ-анализ.

ТАБЛИЦА. РЕЗУЛЬТАТЫ ДНК-ДИАГНОСТИКИ БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ (К ТЕЗИСАМ СЕРМЯГИНОЙ И.Г.)

ПИД	Кол-во больных	Обнаружено мутаций	Пренатальная диагностика
X-сцепленный гипер-IgM синдром	10	5	5
X-сцепленная агаммаглобулинемия	48	26	1
X-сцепленный тяжелый комбинированный иммунодефицит	15	11	5
X-сцепленная хроническая гранулематозная болезнь	20	14	1
X-сцепленный лимфопролиферативный синдром	23	5	1
X-сцепленный синдром Вискота—Олдрича	10	9	1

Основные результаты. На данный момент нами проведены ДНК-диагностики для 126 больных с различными формами первичных иммунодефицитов. Результаты приведены в таблице 1.

Заключение. Проведение ДНК-анализа у больных ПИД позволяет выявить молекулярную причину заболевания и установить носительство мутации у родственников в семье пробанда. Наличие определенной мутации

делает возможным проведение пренатальной диагностики заболевания. На основании накапливаемых данных (спектр мутаций, наличие «горячих точек» и наиболее частых мутаций) в лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ РАМН ведется разработка наиболее эффективных алгоритмов проведения молекулярно-генетического анализа различных форм первичных иммунодефицитов.