

Клинико-генетические варианты первичной цилиарной дискинезии у детей

А.А. Новак, Ю.Л. Мизерницкий

ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Clinical and genetic spectrum of primary ciliary dyskinesia in children

A.A. Novak, Yu.L. Mizernitskiy

Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Первичная цилиарная дискинезия — редкая генетически детерминированная патология, приводящая к хроническому воспалительному поражению респираторного тракта, органов слуха и нарушению фертильной функции. В статье представлены предварительные результаты проводимого в клинике исследования, направленного на возможность прогнозирования клинического течения заболевания в зависимости от генетических вариантов заболевания. Это позволяет при своевременной диагностике персонализировать подход к лечению детей с таким инвалидизирующим заболеванием, как первичная цилиарная дискинезия.

Цель исследования. Определение клинико-генетических вариантов первичной цилиарной дискинезии и выявление закономерностей развития заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены дети от 0 до 18 лет с дефектом цилиарного аппарата, верифицированным посредством анализа подвижности ресничек цилиарного эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и прошедшим исследование экзома.

Результаты. Выявлены характерные закономерности поражения органов мишеней, преобладающие в группе детей с нарушением фактора сборки цилии, а также в группе детей с поражением динеиновых ручек.

Заключение. Проведение генетического обследования у детей с подозрением на первичную цилиарную дискинезию актуально с целью не только подтверждения заболевания, но и прогнозирования его течения.

Ключевые слова: дети, первичная цилиарная дискинезия, клинико-генетические варианты, синдром Картагенера, обратное расположение внутренних органов, тугоухость.

Для цитирования: Новак А.А., Мизерницкий Ю.Л. Клинико-генетические варианты первичной цилиарной дискинезии у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2023; 68:(1): 39–38. DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-1-39-38

Primary ciliary dyskinesia is a rare genetically determined pathology that leads to chronic inflammatory damage to the respiratory tract, hearing organs and impaired fertility. This article presents the preliminary results of a study conducted in the clinic aimed at the possibility of predicting the clinical course of the disease depending on the genetic variants of the disease, which enables, with timely diagnosis, personalizing the approach to the treatment of children with such a disabling disease as primary ciliary dyskinesia.

Purpose. To determine the clinical and genetic variants of primary ciliary dyskinesia, and to identify patterns of disease development. **Material and methods.** The study included children from 0 to 18 years old with a verified defect of the ciliary apparatus, by analyzing the mobility of the cilia of the ciliary epithelium of the mucous membrane of the respiratory tract, and who underwent a next generation sequencing exome study.

Results. The study revealed characteristic patterns of target organ damage, prevailing in a group of children with impaired cilia assembly factor, as well as in a group of children with damaged dynein arms.

Conclusion. Thus, conducting a genetic examination in children with suspected primary ciliary dyskinesia is relevant not only to confirm the disease, but also to predict the course of the disease.

Key words: children, primary ciliary dyskinesia, clinical genetic variants, Kartagener's syndrome, reverse position of internal organs, hearing loss.

For citation: Novak A.A., Mizernitskiy Yu.L. Clinical and genetic spectrum of primary ciliary dyskinesia in children. Ros Vestn Perinatol i Pediatr 2023; 68:(1): 39–38 (in Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-1-39-38

© Новак А.А., Мизерницкий Ю.Л., 2023

Адрес для корреспонденции: Новак Андрей Александрович — мл. науч. сотр. отдела хронических воспалительных и аллергических болезней легких Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0001-9398-2215 e-mail: drnovakaa@yandex.ru

Мизерницкий Юрий Леонидович — заслуженный работник здравоохранения РФ, д.м.н., проф., зав. отделом хронических воспалительных и аллергических болезней легких Научно-исследовательского клинического института педиатрии детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева, засл. работник здравоохранения РФ, ORCID: 0000-0002-0740-1718 127412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Первичная цилиарная дискинезия — редкое генетически детерминированное заболевание из группы цилиопатий, в основе которого лежит дефект ультраструктуры ресничек эпителия респираторного тракта и аналогичных им структур (жгутики сперматозоидов, ворсины фаллопиевых труб, эпендимы желудочков и др.), приводящий к нарушению их двигательной функции. Первичная цилиарная дискинезия характеризуется поражением всех отделов респираторного тракта с формированием хронического воспалительного процесса, а также нарушением фертильности (бесплодие,

преимущественно мужское, эктопические беременности у женщин). Около 50% пациентов с первичной цилиарной дискинезией имеют полное или неполное обратное расположение внутренних органов [1–3].

Первичная цилиарная дискинезия — редкое заболевание, распространенность которого колеблется от 1:2200 до 1:60 000. Широкий разброс данного показателя может быть обусловлен как различиями в критериях диагностики и технических аспектами его расчета, так и популяционными особенностями (географической локализацией различных видов мутаций, частотой кровнородственных браков и т.д.). Так, среди европейских стран самая высокая распространенность на Кипре, 1:9000, а самая низкая — в Эстонии и Болгарии, 1:60 000 детей [2].

В клинической картине у пациентов с первичной цилиарной дискинезией на первый план выступает ранняя манифестация симптомов тотального поражения респираторной системы. Типичные патологические проявления: влажный кашель с гнойной мокротой, яркая картина физикальных изменений в виде множества рассеянных разнокалиберных хрипов в легких, дыхательная недостаточность, рецидивирующий характер инфекций верхних и нижних дыхательных путей, беспокоящих уже с первых суток жизни. В частности, ранним проявлением первичной цилиарной дискинезии может быть неонатальный респираторный дистресс-синдром неясного генеза [3, 4]. Степень тяжести и проявления данного нарушения могут варьировать от транзиторного тахипноэ, начинающегося вскоре после рождения и самостоятельно разрешающегося в течение 5–7 дней, вплоть до длительной кислородозависимости в течение нескольких недель [4]. Первым проявлением, указывающим на наличие первичной цилиарной дискинезии в неонатальном периоде, может служить также пневмония или пневмоторакс [5].

В настоящее время нет единого метода — «золотого стандарта» диагностики первичной цилиарной дискинезии, диагноз устанавливается на основании характерной клинической картины в сочетании с результатами специальных исследований, к которым относятся следующие:

- оценка уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе [6];
- оценка подвижности цилиарного эпителия путем высокоскоростного видеоассистированного микроскопического анализа, при котором анализируется частота и паттерн биения ресничек в биоптате из полости носа или бронха [7];
- электронная микроскопия биоптата из полости носа или бронха либо сперматозоида (для выявления аномалий их строения) [8];
- высокого разрешения иммунофлуоресцентный анализ цилиарного эпителия [9];
- медико-генетическое обследование.

Ввиду трудностей в подходе к диагностике и субъективности методов верификации заболевания, отсутствия стандартизированных критериев постановки диагноза, особенно при получении пограничных значений обследования, именно молекулярно-генетические методы постепенно приобретают решающее значение в верификации диагноза первичной цилиарной дискинезии.

В настоящее время мутации, вызывающие первичную цилиарную дискинезию, идентифицированы в 47 генах. Данные мутации возможно сгруппировать по тем структурам, которые они кодируют, либо по процессам сборки цилии. Таким образом, выделяют мутации в генах, кодирующих белки динеиновых ручек, радиальных спиц, центрального аппарата, нексиновых связок (см. рисунок), и белки, обуславливающие нормальную сборку ресничек.

Динеиновые ручки в подвижных ресничках представляют собой двуглавые структуры, содержащие две тяжелые цепи динеина (DHC), γ и β , а также две

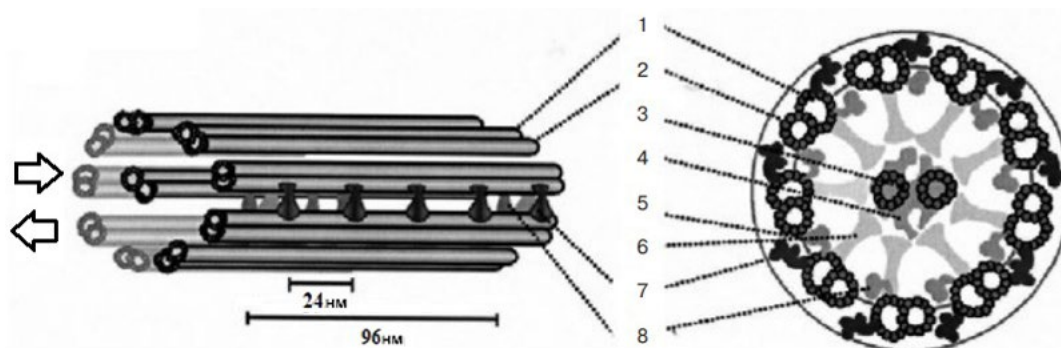


Рисунок. Структура аксонемы реснички в норме (цит. по [2]).

1 — микротрубочки А; 2 — микротрубочки В; 3 — центральная пара; 4 — оболочка центральной пары; 5 — нексиновая связка; 6 — радиальная спица; 7 — наружные динеиновые ручки; 8 — внутренние динеиновые ручки.

Figure. Structure diagram of the axoneme of cilia [2].

1 — microtubules A; 2 — microtubules B; 3 — central pair; 4 — covering of central pair; 5 — nexin link; 6 — radial spoke; 7 — outer dynein arms; 8 — inner dynein arms.

промежуточные легкие цепи [10]. В эпителиальных клетках, выстилающих дыхательные пути, γ -DHC кодируется только *DNAH5* (Dynein Axonemal Heavy Chain), тогда как β -DHC кодируется одним из двух генов: *DNAH11* или *DNAH9*. Внешние динеиновые ручки (ODA), содержащие тяжелую цепь аксономы динеина 11 β -DHC (кодируемую геном *DNAH11*), присутствуют в проксимальной части ресничек (ODA тип 1), в то время как внешние динеиновые ручки, содержащие тяжелую цепь аксономы динеина 9 (кодируемую геном *DNAH9*), пристыкованы к дистальной части ресничек (ODA тип 2) [11]. Из этих трех вариантов мутаций динеина варианты в *DNAH5* вызывают самые тяжелые изменения в паттернах биения ресничек, в то время как мутации в *DNAH9* приводят к самым мягким изменениям [12]. Реснички респираторных эпителиальных клеток у пациентов с мутациями в *DNAH5* либо неподвижны, либо имеют низкую активность [13]. Мутации в *DNAH11*, наоборот, только снижают амплитуду биений ресничек и увеличивают их частоту [14]. При этом мутации *DNAH9* характеризуются изменением изгиба дистальной части ресничек без особого влияния на характер их биения [12].

Исследование клеток респираторного эпителия с помощью просвечивающей электронной микроскопии показало, что ODA отсутствуют по всей длине ресничек у пациентов с мутациями в гене *DNAH5*, а при мутации в *DNAH9* — только в дистальной части ресничек [12, 13]. В случае мутаций в *DNAH11* ультраструктурные дефекты ODA не могут быть обнаружены с помощью классической просвечивающей электронной микроскопии [15]. Реснички с отсутствующими или укороченными ODA также служат характерным признаком первичной цилиарной дискинезии, вызванной мутациями в генах *DNAI1* (Dynein Axonemal Intermediate Chain) и *DNAI2* [16].

Стыковочные белки с динеином ODA распределены регулярно, каждые 24 нм, вдоль наружных микротрубочек дублетов, за исключением дистального конца реснички [17]. В прикреплении внешних динеиновых ручек к микротрубочкам участвует набор белков, образующих стыковочный комплекс. Мутации в генах, кодирующих субъединицы стыковочного комплекса ODA, приводят к сборке ресничек, лишенных ODA. Полноэкзомное или полногеномное секвенирование образцов ДНК, полученных от пациентов с первичной цилиарной дискинезией, у которых исключительно отсутствуют ODA, выявило среди прочего мутации с потерей функции в следующих локусах: *CCDC114*, *CCDC151*, *ARMC4* и *TTC25* [18, 19].

Иммунофлуоресцентные исследования показали, что в клетках респираторного эпителия белки, кодируемые этими генами, локализуются в аксомах ресничек. Мутации с потерей функции во всех перечисленных локусах имеют сходные фенотипические признаки. Исследования с помощью высокоскорост-

ной видеоассистированной микроскопии показали, что реснички, как правило, неподвижны или редко демонстрируют остаточные подергивания.

В большом проценте случаев у людей, страдающих первичной цилиарной дискинезией, характеризующейся отсутствием наружных и внутренних динеиновых ручек (по данным просвечивающей электронной микроскопии), генетические тесты не выявили мутаций в генах, кодирующих субъединицы этих структур, а обнаружили мутацию в генах, кодирующих цитоплазматические белки (называемые факторами сборки аксономы динеина, DNAAF). Эти белки действуют как ко-шапероны во время предварительной сборки динеиновых ручек и белков, играющих роль в предварительной сборке или транспорте динеиновых ручек к ресничкам. Лица с первичной цилиарной дискинезией, вызванной мутацией в данных генах, имеют неподвижные реснички, которые либо лишены внешних и внутренних динеиновых ручек, либо имеют выраженные дефекты этих структур [20, 21].

Лица с первичной цилиарной дискинезией, вызванной мутациями в генах, кодирующих компоненты радиальных спиц, подобно лицам с мутацией белков, образующих центральный аппарат, имеют все симптомы заболевания, за исключением дефектов латерализации. Морфологически радиальные спицы напоминают заглавную букву «Т» и могут быть разделены на 3 части:

- стержень, который прикрепляется к периферическому дублету микротрубочек и тянется к центральному аппарату;
- головка, самая дистальная часть лучевой спицы, которая может взаимодействовать с выступами центрального аппарата;
- шейка, соединяющая ствол и головку.

Мутации в 5 генах, кодирующих белки радиальных спиц, ассоциированы с первичной цилиарной дискинезией. Это гены, кодирующие субъединицы головки радиальной спицы: *RSPH1*, *RSPH4A* и *RSPH9*; субъединицу стержня радиальной спицы — *RSPH3* и субъединицу шейки радиальной спицы — *RSPH16* [22–26].

Высокоскоростная видеомикроскопия клеток носового эпителия у лиц, имеющих мутации в *RSPH4A* и *RSPH9*, показала, что реснички бьются с меньшей частотой и имеют аномальный характер биения (круговые движения). В случае мутаций в генах *RSPH1* и *RSPH3* реснички бьются не только с меньшей частотой, но и с уменьшенной амплитудой. Анализ с использованием классической просвечивающей электронной микроскопии показал, что более 50% поперечных сечений ресничек, по-видимому, имеют нормальную (9+2) организацию, в то время как остальные реснички лишены центрального аппарата (9+0) или имеют смещенный внешний дублет к центру реснички (8+1).

Сигнал, регулирующий биение ресничек, в норме исходит от центрального аппарата, и пока идентифи-

цированы мутации в трех генах, приводящих к развиту первичной цилиарной дискинезии, а именно в генах *HYDIN*, *SPEF2* и *CFAP221* [27–29]. У пациентов с первичной цилиарной дискинезией и мутацией в гене *HYDIN* практически не снижается частота биения ресничек, а с мутацией в генах *SPEF2* и *CFAP221* незначительное снижение частоты сопровождается дискоординацией биения с уменьшением амплитуды движения. Анализ этих ресничек с помощью просвечивающей электронной микроскопии выявил обычно нормальную (9+2) организацию строения аксоном [27, 28].

Нексиновые связки были впервые описаны как мостовидные структуры, соединяющие два соседних наружных микротубулярных дуплета [30]. Показано, что мутации в трех генах, кодирующих субъединицы нексиновых связок (*DRC1/CCDC164*, *DRC2/CCDC65* и *DRC4/GAS8*), вызывают первичную цилиарную дискинезию [31–34]. При проведении просвечивающей электронной микроскопии у людей с мутациями в данных генах не обнаруживаются явные аномалии строения ресничек, однако при тщательном изучении срезов возможно выявить отсутствие связок, сокращение числа внутренних динеиновых ручек и смещение некоторых периферических дуплетов [31]. Для идентификации таких незначительных изменений в ресничках требуется детальное исследование данных электронной микроскопии с привлечением опытного диагноста. Кроме того, следует иметь в виду, что даже у здоровых людей встречаются реснички со смещенными периферическими дублетами, а также то, что не все нексиновые связки хорошо видны на поперечных срезах ресничек (в большинстве случаев на них можно обнаружить только от 1 до 4 нексиновых связок) [35].

Несмотря на трудность детекции аномалий в нексиновых связках, мутации в этих генах вызывают явные изменения биения ресничек. Микроскопия цилиарного эпителия у пациентов с мутацией в генах *CCDC164* или *CCDC65* показывает, что у лиц с первичной цилиарной дискинезией реснички бьются с более высокой частотой, чем у здоровых людей [32]. Более того, реснички кажутся ригидными и гиперкинетическими, а амплитуда их биений слегка снижена [31].

Мутации генов белков MCIDAS (белки клеточного цикла, ассоциированный с мультицилевой дифференцировкой и синтезом ДНК) и CCNO (циклин О) значительно снижают количество собранных ресничек. У лиц с мутациями в этих генах нарушения мукоцилиарного клиренса аналогичны мутациям у лиц, страдающих первичной цилиарной дискинезией. Детальный анализ клеток респираторного эпителия, полученных при биопсии, показал, что у лиц с мутацией гена *MCIDAS* количество базальных телец значительно снижено, а среди тех, что имеются в клетке, некоторые базаль-

ные тельца не прилегают к апикальной поверхности клетки. Вследствие этого респираторные эпителиальные клетки лишены ресничек или редко имеют только 1–2 реснички. Более того, собранные реснички неподвижны и лишены их ключевых белков, таких как CCDC39 и DNAH5 [36]. Сходные, смещенные и менее многочисленные базальные тельца наблюдаются в клетках респираторного эпителия, полученных при биопсии от людей с мутациями гена белка CCNO, но в этом случае собранные редкие реснички имеют нормальную ультраструктуру и характер биения [37]. Таким образом, различные варианты первичной цилиарной дискинезии имеют ряд четких морфологических особенностей, которые проявляются в морфофункциональных характеристиках работы цилии, что влияет на клиническую картину заболевания у ребенка.

Цель исследования: определение клинико-генетических вариантов первичной цилиарной дискинезии для повышения эффективности диагностики, раннего выявления и возможности прогнозирования течения заболевания.

Характеристика детей и методы исследования

В исследование включены 50 детей с первичной цилиарной дискинезией, средний возраст которых на момент обследования составил 6,8 [5,64; 8,13] года, из них 60% (30/50) девочек и 40% (20/50) мальчиков, находившихся в отделении пульмонологии НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева с 2019 по 2022 г. Средний возраст дебюта заболевания составил 5,3 [0,49; 10,17] мес, средний возраст установления диагноза — 58,2 [40,98; 75,45] мес. В анализируемой группе 42% (21/50) детей имели обратное расположение внутренних органов, т.е. синдром Картагенера. У этих детей отмечался более ранний возраст верификации заболевания, составивший в среднем 19,8 [8,2; 31,47] мес.

На основании результатов клинико-лабораторных и инструментальных исследований была диагностирована первичная цилиарная дискинезия. В зависимости от генов, варианты которых были выявлены у пациентов, сформированы следующие группы:

1-я — 17 детей с патологическими вариантами генов, кодирующих динеиновые ручки. В эту группу входили пациенты, имеющие патогенные и, вероятно, патогенные варианты генов, кодирующих белки динеиновых ручек (*DNAH11*, *DNAH3*, *DNAH5*, *DNAI2*, *CCDC114*);

2-я — 11 детей с патологическими вариантами генов, кодирующих процесса сборки цилии (pre-assembling factor). В эту группу входили пациенты, имеющие патогенные и, вероятно, патогенные варианты генов, кодирующих белки предварительной сборки цилии (*CCNO*, *CFAP300*, *DNAAF1*, *MSIDAS*, *PIH1D3*, *ZMYND10*);

3-я — 7 детей с патологическими вариантами генов, кодирующих центральную пару микротрубочек (central complex). В эту группу входили паци-

енты, имеющие патогенные и вероятно патогенные варианты генов, кодирующих белки центрального комплекса и сочетанных с ними структур (*HYDIN*, *CCDC39*, *DRC1*, *RSPH1*);

4-я — 15 детей с биаллельными вариантами генов, ответственных за развитие первичной цилиарной дискинезии. В эту группу входили пациенты, у которых не удалось верифицировать гомозиготные варианты генов ответственных за развитие первичной цилиарной дискинезии.

Критерии включения: диагноз первичной цилиарной дискинезии, установленный в соответствии с клиническими рекомендациями по диагностике и лечению первичной цилиарной дискинезии, а также наличие добровольного информированного согласия законного представителя на включение в настоящее исследование [2, 3].

Критерии исключения: возраст старше 18 лет на момент обследования, а также отсутствие добровольного информированного согласия законного представителя на включение в настоящее исследование.

Пациентам проводили клинико-диагностическое обследование в виде спирометрии и бодиплетизмографии на аппарате Jaeger type masterscreen-body, компьютерную томографию с применением аппарата Philips MX16, аудиологическое исследование на аппарате TymStar Pro по протоколу Tym226Hz, молекулярно-генетическое исследование в виде полноэкзомного секвенирования и анализ полученных данных с помощью модифицированного биоинформатического алгоритма, разработанного в НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева. Секвенирование полного экзона выполняли с помощью платформы HiSeq 1500 (Illumina), также набора экзомного обогащения — SureSelect Clinical Research Exome Enrichment Kit. Оценку качества необработанных данных секвенирования осуществляли с помощью алгоритма FastQC. Для удаления последовательностей с низким качеством и обрезания адаптерных последовательностей использовали программные пакеты Trimmomatic и SeqPurge, в то время как картирование рядов на референсный геном человека сборки GRCh38 проводили с помощью программного пакета bwa. Программа GATK4 была использована для удаления продуктов ПЦР и оптических дубликатов, а также в целях выявления однонуклеотидных генетических вариантов, коротких инсерций и делеций. Аннотация полученных генетических вариантов была проведена с помощью программы ENSEMBL-VEP. Обнаруженные генетические варианты были классифицированы в соответствии с рекомендациями ACMG.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 10.0.1011 (Stat Soft Inc., США). Данные представлены в виде *Me* [Q1; Q2], где *Me* — медиана, [Q1; Q2] — первый и третий квартили.

Результаты и обсуждение

Комплексное обследование пациентов с первичной цилиарной дискинезией позволило провести оценку структурных и функциональных нарушений в органах, непосредственно вовлеченных в патологический процесс, в соответствии с генетическим вариантом заболевания. В связи с этим проводился анализ данных, полученных в ходе компьютерной томографии органов грудной клетки, оценки функции внешнего дыхания, а также оценки состояния ЛОР-органов.

Инструментальная оценка структурного состояния органов дыхания проводилась на основе компьютерно-томографического исследования органов грудной полости. У пациентов с первичной цилиарной дискинезией выявлено преимущественное поражение средних и нижних долей легких, что проявлялось субсегментарными ателектазами, перибронхиальными уплотнениями, выраженными бронхоэктазами [38]. У всех детей с первичной цилиарной дискинезией, вне зависимости от клинико-генетического варианта, определялись признаки хронического бронхита, что соответствует данным зарубежных источников [39]. Самой распространенной локализацией ателектазов легких была средняя доля правого легкого (при *situs viscerum inversus* — леворасположенного легкого). Всего эти изменения были верифицированы у 46,6% ($n=21$) детей, из них у 95% ($n=20$) указанные изменения преобладали в области средней доли легкого.

Бронхоэктазы были верифицированы у 17,7% ($n=8$) обследованных детей. При этом определялись цилиндрические, мешотчатые и смешанные бронхоэктазы. В 1-й группе детей бронхоэктазы выявлены у 25% ($n=4$), во 2-й группе — только у 9% ($n=1$), в 3-й группе — у 20% ($n=1$), в 4-й группе — у 21,5% ($n=3$). Имеется недостаточно информации о распространенности бронхоэктазов у детей с различными генетическими вариантами первичной цилиарной дискинезии в разном возрасте, однако, по данным М.А. Олм и соавт. [39], бронхоэктазы при компьютерной томографии выявляются у 61% этих детей.

Оценка функции внешнего дыхания проводилась посредством пульсоксиметрии, спирометрии и бодиплетизмографии. В рамках анализа представлялось целесообразным полученный массив данных визуализировать в виде диапазона распределения значений. Дети всех групп по данным пульсоксиметрии имели удовлетворительные показатели насыщения (сатурации) кислородом крови в состоянии покоя ($SpO_2 > 95\%$).

Особое внимание привлекли показатели жизненной емкости легких, объема форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$), максимальной объемной скорости воздуха при выдохе 75% от форсированной жизненной емкости легких и показатели бронхиального сопротивления (см. таблицу). По данным мета-анализа 163 зарубежных исследований, проведенного

Таблица. Разброс показателей функции внешнего дыхания в анализируемых группах детей с первичной цилиарной дискинезией
 Table. Distribution of indicators of the function of external respiration in the analyzed groups of children with primary ciliary dyskinesia

Группа	ЖЕЛ		ОФВ ₁		МОС ₇₅		БС	
	min	max	min	max	min	max	min	max
1-я	60	120	64	124	40	92	81	151
2-я	46	98	45	96	15	73	73	184
3-я	66	89	64	97	23	79	—	—
4-я	58	92	72	102	29	121	68	144

Примечание. ЖЕЛ — жизненная емкость легких; ОФВ₁ — объем форсированного выдоха за первую секунду; МОС₇₅ — максимальная объемная скорость воздуха при выдохе 75% от форсированной жизненной емкости легких; БС — бронхиальное сопротивление.

F.S. Halbeisen и соавт. [40], для детей с первичной цилиарной дискинезией характерны колебания показателей ОФВ₁ от 51 до 96%, составляя в среднем 75 [69; 80] %, показатели ЖЕЛ варьируют в диапазоне 66–92%, составляя в среднем 83 [78; 89] %.

При анализе отмечен широкий диапазон распределения показателей функции внешнего дыхания, однако при оценке объемных и скоростных показателей самые низкие из них отмечены во 2-й группе детей, а самой благоприятной явилась 1-я группа, в которой у отдельных детей определены показатели даже выше 100%. Для детей с первичной цилиарной дискинезией считается важной оценка максимальной объемной скорости воздуха при выдохе 75% от форсированной жизненной емкости легких; этот показатель отражает скорость воздушного потока по бронхам мелкого калибра. Самые низкие значения данного показателя отмечались во 2-й и 3-й группах обследованных больных.

Помимо поражений нижних дыхательных путей, у лиц, страдающих первичной цилиарной дискинезией, отмечаются стойкие изменения ЛОР-органов. Эти изменения проявляются в виде рецидивирующих риносинуситов, рецидивирующих отитов, прогрессирующей тугоухости. По данным M. Goutaki и соавт. [41], в детской практике у 59% больных отмечаются патологические изменения в области околоносовых пазух, а у 69% такие патологические состояния обусловили необходимость хирургического вмешательства.

Поражение ЛОР-органов у детей с первичной цилиарной дискинезией выявляется часто. Среди анализируемых детей патологические состояния околоносовых пазух выявлялись в более высоком проценте случаев, чем по данным зарубежных исследователей. В 1-й группе такие изменения отмечены у 81,25% ($n=13$), во 2-й группе — у 90,9% ($n=10$), в 3-й группе — у 75% ($n=3$), в 4-й группе — у 78% ($n=11$). Тугоухость в 1-й группе определялась у 20% детей ($n=3$), во 2-й группе — у 45% детей ($n=5$), в 3-й группе — 0%, в 4-й группе — у 16,6% детей ($n=2$). Таким образом, при оценке патологии ЛОР-органов определялся равномерно высокий уровень патологических состояний, однако во 2-й группе изменения встречались чаще всего, что также коррелирует

с частотой развития тугоухости, которая у этих пациентов имела самый высокий уровень и была патогенетически обусловлена аномалией сборки цилий.

Как видно из полученных нами предварительных данных, даже несмотря на относительно небольшую выборку можно сделать вывод, что для детей с первичной цилиарной дискинезией характерна в преобладающем числе случаев тотальность признаков поражения как верхних, так и нижних дыхательных путей. Однако среди выделенных групп особое внимание привлекала та, в которой преобладали пациенты с более тяжелым вариантом течения заболевания и выраженными изменениями органов дыхания. Данная группа с аномалиями сборки цилий была представлена детьми, имеющими аномальное строение эпителиальных клеток дыхательных путей. Таким образом, у пациентов с указанными генетическими дефектами при оценке подвижности цилиарного эпителия определенно идентифицируют резкое сокращение числа ресничек на поверхности клеток. Реснички зачастую характеризуются нормальной активностью, однако их малое количество обуславливает особенности течения заболевания. В связи с этим указанная группа детей, по предварительным данным, имеет самые плохие показатели инструментальной оценки органов дыхания. В свою очередь, группа детей с поражением динеиновых ручек имеет наиболее благоприятный вариант течения заболевания, у них отмечаются более высокие показатели функции внешнего дыхания. К сожалению, ввиду запоздалой диагностики заболевания у этих детей успевают сформироваться ателектазы и локальные участки фиброза легочной ткани еще до момента верификации диагноза и коррекции лечения. Но при анализе характеристик течения заболевания структурные аномалии по типу ателектаза и локального фиброза не были задействованы у них в модуляции заболевания в отрицательную сторону.

Выделение клинко-генетических вариантов первичной цилиарной дискинезии позволило выявить закономерности развития заболевания в зависимости от его варианта. Данные закономерности позволяют прогнозировать более уязвимые органы-мишени, что открывает возможность предотвратить необратимые изменения.

Результаты проведенного исследования являются предварительными и продолжается набор детей для расширения базы данных, а также совершенствования и более глубокого анализа полученных результатов. Первичная цилиарная дискинезия включает большое количество генетических вариантов, а респираторная представляет собой сложноорганизованную структуру с большим количеством задействованных в нормальном функционировании элементов, что требует значительного массива данных для качественных и убедительных выводов. Ввиду того, что первичная цилиарная дискинезия — редкое, труднодиагностируемое заболевание, подбор и увеличение числа пациентов в национальных рамках представляет серьезную проблему, не позволяющую ускорить исследование.

Заключение

Первичная цилиарная дискинезия — редкое заболевание, имеющее широкий спектр проявлений и степени их выраженности. Как показывают результаты проведенного нами исследования, существует

взаимосвязь генетического варианта первичной цилиарной дискинезии со степенью выраженности структурно-функциональных изменений. Это позволяет предположить будущие особенности ведения пациентов с этим заболеванием, например когда дети из групп с более высоким риском развития патологии слуха будут находиться под более пристальным контролем сурдологов в целях предотвращения формирования необратимых изменений.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность врачам отделения пульмонологии НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева Соколовой Л.В., Богорада А.Е., Зориной И.Е., Дьяковой С.Э., Захарову П.П., Шатохе П.А., Лев Н.С., врачу-рентгенологу Костюченко М.В., лаборанту-исследователю лаборатории клинической геномики и биоинформатики Смирновой А.В., врачам-генетикам Меликян Л.П., Раджабовой Г.М. за помощь и ценные советы в ходе подготовки данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Hildebrandt F., Benzing T. Ciliopathies. *N Engl J Med* 2011; 364(16): 1533–1543. DOI: 10.1056/NEJMra1010172
- Богорада А.Е., Дьякова С.Э., Мизерницкий Ю.Л. Первичная цилиарная дискинезия: современные подходы к диагностике и терапии. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2019; 64(5): 123–133. [Bogorad A.E., D'yakova S.E., Mizernitskiy Yu.L. Primary ciliary dyskinesia: modern approaches to diagnosis and therapy. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* 2019; 64(5): 123–133. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-5-123-133
- Новак А.А., Мизерницкий Ю.Л. Первичная цилиарная дискинезия: состояние проблемы и перспективы. *Медицинский совет* 2021; (1): 276–285. [Novak A.A., Mizernitskiy Yu.L. Primary ciliary dyskinesia: the state of the problem and prospects. *Meditainskiy sovet* 2021; 1: 276–285. (in Russ.)] DOI: 10.21518/2079-701X-2021-1-276-285
- Ferkol T., Leigh M. Primary ciliary dyskinesia and newborn respiratory distress. *Semin Perinatol* 2006; 30(6): 335–340. DOI: 10.1053/j.semperi.2005.11.001
- Mullowney T., Manson D., Kim R., Stephens D., Shah V., Dell S. Primary ciliary dyskinesia and neonatal respiratory distress. *Pediatrics* 2014; 134(6): 1160–1166. DOI: 10.1542/peds.2014-0808
- Lucas J.S., Barbato A., Collins S.A., Goutaki M., Behan L., Caudri D. et al. European respiratory society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 2017; 49(1): 1601090. DOI: 10.1183/13993003.01090-2016
- Sturgess J.M., Turner J.A. Ultrastructural pathology of cilia in the immotile cilia syndrome. *Perspect Pediatr Pathol* 1984; 8(2): 133–161.
- O'Callaghan C., Rutman A., Williams G.M., Hirst R.A. Inner dynein arm defects causing primary ciliary dyskinesia: repeat testing required. *Eur Respir J* 2011; 38(3): 603–607. DOI: 10.1183/09031936.00108410
- Fliegauf M., Olbrich H., Horvath J., Wildhaber J.H., Zariwala M., Kennedy M. et al. Mislocalization of DNAH5 and DNAH9 in respiratory cells from patients with primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(12): 1343–1349. DOI: 10.1164/rccm.200411-1583OC
- Loges N.T., Omran H. Dyneins (Second Edition) *Dynein Mechanics, Dysfunction and Disease*. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2018. Dynein dysfunction as a cause of primary ciliary dyskinesia and other ciliopathies; p. 316–355
- Fliegauf M., Olbrich H., Horvath J., Wildhaber J.H., Maimoona Z.A., Kennedy M. et al. Mislocalization of DNAH5 and DNAH9 in respiratory cells from patients with primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1343–1349. DOI: 10.1164/rccm.200411-1583OC
- Loges N.T., Antony D., Maver A., Deardorff M.A., Güleç E.Y., Gezdirici A. et al. Recessive DNAH9 loss-of-function mutations cause laterality defects and subtle respiratory ciliary-beating defects. *Am J Hum Genet* 2018; 103: 995–1008. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.10.020
- Omran H., Häffner K., Völkel A., Kuehr J., Ketelsen U.P., Ross U.H. et al. Homozygosity mapping of a gene locus for primary ciliary dyskinesia on chromosome 5p and identification of the heavy dynein chain DNAH5 as a candidate gene. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 696–702. DOI: 10.1165/ajrcmb.23.5.4257
- Schwabe G.C., Hoffmann K., Loges N.T., Birker D., Rossier C., Olbrich H. et al. Primary ciliary dyskinesia associated with normal axoneme ultrastructure is caused by DNAH11 mutations. *Hum Mutat* 2008; 29: 289–298. DOI: 10.1002/humu.20656
- Knowles M.R., Leigh M.W., Carson J.L., Davis S.D., Dell S.D., Ferkol T.W. et al. Genetic Disorders of Mucociliary Clearance Consortium. Mutations of DNAH11 in patients with primary ciliary dyskinesia with normal ciliary ultrastructure. *Thorax* 2012; 67: 433–441. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2011-200301
- Pennarun G., Escudier E., Chapelin C., Bridoux A.M., Cacheux V., Roger G. et al. Loss-of-function mutations in a human gene related to Chlamydomonas reinhardtii dynein IC78 result in primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1508–1519. DOI: 10.1086/302683
- Nicastro D., Schwartz C., Pierson J., Gaudette R., Porter M.E., McIntosh J.R. The molecular architecture of axonemes revealed by cryoelectron tomography. *Science* 2006; 313: 944–948. DOI: 10.1126/science.1128618
- Onoufriadis A., Paff T., Antony D., Shoemark A., Micha D., Kuyt B. et al. Splice-site mutations in the axonemal outer dynein arm docking complex gene CCDC114 cause primary

- ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet* 2013; 92: 88–98. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.11.002
19. Wu D.H., Singaraja R.R. Loss-of-function mutations in CCDC114 cause primary ciliary dyskinesia. *Clin Genet* 2013; 83: 526–527. DOI: 10.1111/cge.12127
 20. Duquesnoy P., Escudier E., Vincensini L., Freshour J., Bridoux A.M., Coste A. et al. Loss-of-function mutations in the human ortholog of *Chlamydomonas reinhardtii* ODA7 disrupt dynein arm assembly and cause primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet* 2009; 85: 890–896. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.11.008
 21. Omran H., Kobayashi D., Olbrich H., Tsukahara T., Loges N.T., Hagiwara H. et al. Ktu/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature* 2008; 456: 611–616. DOI: 10.1038/nature07471
 22. Satouh Yu., Padma P., Toda T., Satoh N., Ide H., Inaba K. Molecular characterization of radial spoke subcomplex containing radial spoke protein 3 and heat shock protein 40 in sperm flagella of the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol Biol Cell* 2005; 16: 626–636. DOI: 10.1091/mbc.e04-09-0784
 23. Castleman V.H., Romio L., Chodhari R., Hirst R.A., de Castro S.C.P., Parker K.A. et al. Mutations in radial spoke head protein genes RSPH9 and RSPH4A cause primary ciliary dyskinesia with central-microtubular-pair abnormalities. *Am J Hum Genet* 2009; 84: 197–209. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.01.011
 24. Alsaadi M.M., Gaunt T.R., Boustred C.R., Guthrie P.A.I., Liu X., Lenzi L. et al. From a single whole exome read to notions of clinical screening: primary ciliary dyskinesia and RSPH9 p.Lys268del in the Arabian Peninsula. *Ann Hum Genet* 2012; 76: 211–220. DOI: 10.1111/j.1469-1809.2012.00704.x
 25. Jeanson L., Copin B., Papon J.F., Dastot-Le Moal F., Duquesnoy P., Montantin G. et al. RSPH3 mutations cause primary ciliary dyskinesia with central-complex defects and a near absence of radial spokes. *Am J Hum Genet* 2015; 97: 153–162. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.05.004
 26. El Khouri E., Thomas L., Jeanson L., Bequignon E., Vallette B., Duquesnoy P. et al. Mutations in dnajb13, encoding an hsp40 family member, cause primary ciliary dyskinesia and male infertility. *Am J Hum Genet* 2016; 99: 489–500. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.06.022
 27. Olbrich H., Schmidts M., Werner C., Onoufriadi A., Loges N.T., Raidt J. et al. Recessive HYDIN mutations cause primary ciliary dyskinesia without randomization of left-right body asymmetry. *Am J Hum Genet* 2012; 91: 672–684. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.08.016
 28. Cindrić S., Dougherty G.W., Olbrich H., Hjejij R., Loges N.T., Amirav I. et al. Spef2- and hydin-mutant cilia lack the central pair associated protein SPEF2 aiding PCD diagnostics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2019; 62(3): 382–396. DOI: 10.1165/rmb.2019-0086OC
 29. Bustamante-Marin X.M., Shapiro A., Sears P.R., Charng W.L., Conrad D.F., Leigh M.W. et al. Identification of genetic variants in CFAP221 as a cause of primary ciliary dyskinesia. *J Hum Genet* 2019; 65(2): 175–180. DOI: 10.1038/s10038-019-0686-1
 30. Warner F.D. Ciliary inter-microtubule bridges. *J Cell Sci* 1976; 20: 101–114
 31. Wirschell M., Olbrich H., Werner C., Tritschler D., Bower R., Sale W.S. et al. The nexin-dynein regulatory complex subunit DRC1 is essential for motile cilia function in algae and humans. *Nat Genet* 2013; 45: 262–268. DOI: 10.1038/ng.2533
 32. Horani A., Brody S.L., Ferkol T.W., Shoseyov D., Wasserman M.G., Ta-shma A. et al. CCDC65 mutation causes primary ciliary dyskinesia with normal ultrastructure and hyperkinetic cilia. *PLoS One* 2013; 26: e72299. DOI: 10.1371/journal.pone.0072299
 33. Olbrich H., Cremers C., Loges N.T., Werner C., Nielsen K.G., Marthin J.K. et al. Loss-of-Function GAS8 Mutations Cause Primary Ciliary Dyskinesia and Disrupt the Nexin-Dynein Regulatory Complex. *Am J Hum Genet* 2015; 97: 546–554. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.08.012
 34. Jeanson L., Thomas L., Copin B., Coste A., Sermet-Gaudelus I., Dastot-Le Moal F. et al. Mutations in Gas8, a gene encoding a nexin-dynein regulatory complex subunit, cause primary ciliary dyskinesia with axonemal disorganization. *Hum Mutat* 2016; 37: 776–785. DOI: 10.1002/humu.23005
 35. Carlen B., Lindberg S., Stenram U. Absence of nexin links as a possible cause of primary ciliary dyskinesia. *Ultrastruct Pathol* 2003; 27: 123–126. DOI: 10.1080/01913120309930
 36. Boon M., Wallmeier J., Ma L., Loges N.T., Jaspers M., Olbrich H. et al. MCIDAS mutations result in a mucociliary clearance disorder with reduced generation of multiple motile cilia. *Nat Commun* 2014; 5: 4418. DOI: 10.1038/ncomms5418
 37. Wallmeier J., Al-Mutairi D.A., Chen C.T., Loges N.T., Pennekamp P., Menchen T. et al. Mutations in CCNO result in congenital mucociliary clearance disorder with reduced generation of multiple motile cilia. *Nat Genet* 2014; 46: 646–651. DOI: 10.1038/ng.2961
 38. Tadd K., Morgan L., Rosenow T., Schultz A., Susanto C., Murray C., Robinson P. CF derived scoring systems do not fully describe the range of structural changes seen on CT scans in PCD. *Pediatric Pulmonology*, 2019; 54(4): 471–477. DOI: 10.1002/ppul.24249
 39. Olm M.A., Caldini E.G., Mauad T. Diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *J Bras Pneumol* 2015; 41(3): 251–263. DOI: 10.1590/S1806-3713201500004447
 40. Halbeisen F.S., Jose A., de Jong C., Nyilas S., Latzin P., Kuehni C.E. et al. Spirometric indices in primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *ERJ Open Res* 2019; 5(2): 00231–2018. DOI: 10.1183/23120541.00231-2018
 41. Goutaki M., Lam Yu.T., Alexandru M., Anagiotos A., Armenogot M., Bequignon E. et al. Study protocol: the ear-nose-throat (ENT) prospective international cohort of patients with primary ciliary dyskinesia (EPIC-PCD). *BMJ Open* 2021; 11(10): e051433. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-051433

Поступила: 16.11.22

Received on: 2022.11.16

Исследование выполнено в рамках Госзадания №200079056 «Разработка программного конвейера для специализированной биоинформатической обработки сложных регионов генома при анализе данных секвенирования NGS пациентов с редкими наследственными заболеваниями и оценка эффективности его применения» (рег. № НИОКТР 121040600401-5).

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

This study was carried out within the framework of State Assignment No. 200079056 “Development of a software pipeline for specialized bioinformatic processing of complex regions of the genome in the analysis of NGS sequencing data of patients with rare hereditary diseases and evaluation of the effectiveness of its application” (Reg. No. NIOKTR 121040600401-5).

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.