

Профили TREC и KREC у пациентов с врожденными дефектами иммунитета

Л.Ю. Барычева, Л.И. Бачиева, Н.А. Козьмова, Л.С. Хачирова, В.В. Кузнецова

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, Россия

TREC and KREC profiles in patients with inborn errors of immunity

L. Yu. Barycheva, L.I. Bachieva, N.A. Kozmova, L.S. Khachirova, V.V. Kuznetsova

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

Анализ TREC/KREC используется в неонатальном скрининге у новорожденных для верификации первичных иммунодефицитов с генетическими дефектами белков, ответственных за развитие Т- и В-лимфоцитов. Информативность метода для постнатальной диагностики распространенных вариантов первичных иммунодефицитов не определена. Определение TREC/KREC выполнено у 44 пациентов с подтвержденным диагнозом врожденных дефектов иммунитета методом полимеразной цепной реакции в реальном режиме времени. У 9 пациентов диагностирована комбинированная иммунная недостаточность, у 25 — комбинированный иммунодефицит с синдромальными признаками, у 5 — заболевания иммунной дисрегуляции, у 5 — дефекты антителообразования. Аномальные показатели TREC/KREC определены у 100% детей с классическими комбинированными иммунодефицитами, у 56% — с синдромальными иммунодефицитами и у 80% — с дефектами антителообразования. Уровни TREC/KREC ниже пороговых значений получены у 55,6% детей с синдромами Луи–Бар, у 40% — с синдромом ДиДжорджи, у обоих пациентов с синдромом Неймеген. Нормальные показатели TREC выявлены у 2 детей с болезнью Вискотта–Олдрича, при расстройствах иммунной регуляции, а также в единичных случаях синдромов Джоба и гипериммуноглобулинемии М. Самые низкие показатели TREC определены у пациентов с комбинированными иммунодефицитами. Полученные результаты подтверждают, что метод TREC/KREC может применяться для скрининговой постнатальной диагностики, в том числе у пациентов с поздним дебютом врожденных дефектов иммунитета.

Ключевые слова: дети, врожденные дефекты иммунитета, диагностика, TREC, KREC.

Для цитирования: Барычева Л.Ю., Бачиева Л.И., Козьмова Н.А., Хачирова Л.С., Кузнецова В.В. Профили TREC и KREC у пациентов с врожденными дефектами иммунитета. *Рос вестн перинатологии и педиатрии* 2024; 69:(6): 51–58. DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-6-51-58

TREC/KREC analysis is utilized in neonatal screening for the detection of primary immunodeficiencies caused by genetic defects in proteins essential for T- and B-lymphocyte development. However, the diagnostic value of this method for the postnatal detection of various primary immunodeficiency forms has not yet been fully established. This study aimed to analyze the TREC/KREC profiles in patients with confirmed inborn errors of immunity. TREC/KREC levels were assessed in 44 patients using real-time PCR at the time of diagnosis. Nine patients were diagnosed with severe combined immunodeficiency (SCID), 25 with syndromic combined immunodeficiency, five with immune dysregulation disorders, and five with antibody production defects. Abnormal TREC/KREC values were observed in 100% of children with classical SCID, 56% with syndromic immunodeficiencies, and 80% with antibody production defects. Sub-threshold TREC/KREC levels were found in 55.6% of children with Louis-Bar syndrome, 40% with DiGeorge syndrome, and both patients with Nijmegen syndrome. Normal TREC levels were observed in two children with Wiskott-Aldrich syndrome, in cases of immune regulation disorders, and in isolated cases of Job syndrome and hyper-IgM syndrome. The lowest TREC values were identified in patients with combined immunodeficiency. These findings support the potential of the TREC/KREC assay as a tool for postnatal screening, including for patients with late-onset inborn errors of immunity.

Key words: children, inborn errors of immunity, diagnostics, TREC, KREC.

For citation: Barycheva L. Yu., Bachieva L. I., Kozmova N. A., Khachirova L. S., Kuznetsova V. V. Investigation of TREC and KREC profiles in patients with congenital immunological errors. *Ros Vestn Perinatol i Peditrii* 2024; 69:(6): 51–58 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-6-51-58

Врожденные дефекты иммунитета представляют собой фенотипически и генетически гетерогенные заболевания, обусловленные мутациями почти 500 генов, большая часть из которых сопровождается нарушениями Т- и В-клеточного иммунитета [1]. Клинические проявления врожденных дефектов

иммунитета варьируют от легких до фатальных инфекций, включают проявления иммунной дисрегуляции (аутоиммунные, воспалительные, аллергические), сопровождаются недостаточностью костного мозга, лимфопролиферативными расстройствами и/или злокачественными новообразованиями

© Коллектив авторов, 2024

Адрес для корреспонденции: Барычева Людмила Юрьевна — д.м.н., проф., зав. кафедрой иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования Ставропольского государственного медицинского университета, ORCID: 0000-0002-4069-0566; e-mail: for_ludmila@inbox.ru

Бачиева Лейла Ибрагимовна — соискатель кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования Ставропольского государственного медицинского университета, ORCID: 0009-0008-7785-4676
Козьмова Наталья Александровна — асс. кафедры иммунологии с курсом

дополнительного профессионального образования Ставропольского государственного медицинского университета, ORCID: 0000-0003-0971-5347
Хачирова Людмила Сергеевна — доц. кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования Ставропольского государственного медицинского университета, ORCID: 0000-0002-2581-6343
Кузнецова Вера Валентиновна — асс. кафедры иммунологии с курсом дополнительного профессионального образования Ставропольского государственного медицинского университета, ORCID: 0009-0003-5246-0527
355017 Ставрополь, ул. Мира, д. 310

ями [1]. Ранняя диагностика и терапия врожденных дефектов иммунитета в многопрофильном стационаре существенно снижают летальность и улучшают прогноз у таких детей.

Экспозиционные кольца генов реаранжировки Т-клеточных рецепторов (TREC) образуются в процессе рекомбинации генов Т-клеточного рецептора (TCR) на поздних этапах дифференцировки Т-лимфоцитов на территории тимуса, содержатся в 70% клетках перед их выходом в периферическое кровообращение и отражают сохранность Т-клеточного звена иммунитета [2]. Каппа-делеционные элементы В-клеточного рецептора (KREC) представляют собой кольцевые сегменты ДНК, образующиеся в В-лимфоцитах на ранних стадиях развития во время их созревания в костном мозге, и определяются в 50% функционально активных В-клеток, попавших на периферию [2].

Анализы, позволяющие оценить число копий TREC и KREC у новорожденных, считаются ценным инструментом неонатального скрининга на первичные иммунодефициты [2]. Кроме неонатального скрининга, анализ TREC/KREC при-

меняют для мониторинга Т-лимфоцитов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, на фоне иммуносупрессивной терапии, а также у пациентов с ВИЧ-инфекцией [3]. Вместе с тем профили TREC/KREC при различных формах врожденных дефектов иммунитета до сих пор не определены.

Цель исследования: изучить уровни TREC и KREC у детей с распространенными формами врожденных дефектов иммунитета и оценить потенциальную перспективность метода для постнатальной диагностики врожденных иммунодефицитов в многопрофильном стационаре.

Характеристика детей и методы исследования

Исследование проведено с участием 44 пациентов, отобранных из регистра первичных иммунодефицитов Ставропольского края на основании генетически подтвержденного диагноза в дизайне ретроспективного когортного обсервационного исследования (см. таблицу). Диагноз устанавливали в соответствии с критериями ESID (Европейское общество иммунодефицитов) [4].

Таблица. Число копий TREC/KREC у пациентов с подтвержденным диагнозом врожденных дефектов иммунитета
Table. The number of copies of TREC/KREC in patients with a confirmed diagnosis of congenital errors of immunity

Пациент	Возраст, мес	Заболевание	Ответственный ген	TREC	KREC
Комбинированные иммунодефициты (ТКИН)					
П1	12	Аутосомно-рецессивная ТКИН	<i>JAK3</i>	1	1126
П2	2	Х-сцепленная ТКИН	<i>IL2RG</i>	0	2610
П3	4	Х-сцепленная ТКИН	<i>IL2RG</i>	0	1460
П4	1	Х-сцепленная ТКИН	<i>IL2RG</i>	0	7856
П5	36	Дефицит аденозиндезаминазы	<i>ADA</i>	64	32
П6	9	ТКИН Т-В-NK+	Не уточнен	2	12
П7	6	Синдром Artemis	<i>DCLRE1C</i>	1	6
П8	39	Дефект ДНК-лигазы 4	<i>LIG4</i>	9	28
П9	72	Дефицит метилентетрагидрофолат дегидрогеназы	<i>MTHFD1</i>	15	2
Комбинированные иммунодефициты с синдромальными признаками (синдромы)					
П10	39	ДиДжорджи	<i>del 22q11.2</i>	289	1607
П11	60	ДиДжорджи	<i>del 22q11</i>	118	456
П12	56	ДиДжорджи	<i>del 22q11</i>	48	510
П13	64	ДиДжорджи	<i>del 22q11</i>	51	315
П14	18	ДиДжорджи	<i>del 22q11</i>	312	980
П15	60	Якобсона	<i>del 11q24.2q25</i>	2	36
П16	14	Вискотта—Олдрича	<i>WASP</i>	380	360
П17	192	Вискотта—Олдрича	<i>WASP</i>	722	1082
П18	3	Неймеген	<i>NBN</i>	3	118
П19	60	Неймеген	<i>NBN</i>	602	0
П20	4	Джоба	<i>STAT3</i>	1220	1702
П21	132	Луи—Бар	<i>ATM</i>	220	86
П22	67	Луи—Бар	<i>ATM</i>	0	1200

Окончание таблицы

Пациент	Возраст, мес	Заболевание	Ответственный ген	TREC	KREC
П23	117	Луи–Бар	<i>ATM</i>	14	458
П24	87	Луи–Бар	<i>ATM</i>	78	458
П25	113	Луи–Бар	<i>ATM</i>	879	329
П26	118	Луи–Бар	<i>ATM</i>	36	0
П27	156	Луи–Бар	<i>ATM</i>	380	0
П28	5	Луи–Бар	<i>ATM</i>	56	257
П29	56	Луи–Бар	<i>ATM</i>	48	114
П30	75	Шимке	<i>SMARCAL1</i>	96	210
П31	49	Шимке	<i>SMARCAL1</i>	0	945
П32	15	Швахмана–Даймонда	<i>SBDS</i>	1043	364
П33	71	Швахмана–Даймонда	<i>SBDS</i>	1100	890
П34	1	Мак Кьюсик	<i>RMRP</i>	0	3039
Дефекты иммунной регуляции					
П35	19	Грисцелли	<i>RAB27A</i>	1100	3600
П36	37	Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром	Не уточнен	380	1400
П37	21	Германски–Пудлака	<i>HPS4</i>	320	7400
П38	2	Семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз	<i>UNC13D</i>	1092	899
П39	53	Семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз	<i>PRF1</i>	520	700
Нарушения антителообразования					
П40	68	Болезнь Бругона	<i>BTK</i>	630	54
П41	168	Болезнь Бругона	<i>BTK</i>	1300	34
П42	51	Болезнь Бругона	<i>BTK</i>	1780	42
П43	2,5	Аутосомно-рецессивный дефект АТ	<i>IGLL1</i>	7856	0
П44	44	Гипериммуноглобулинемия М	<i>AICDA</i>	6827	1918

Молекулярно-генетические исследования выполнялись в ФГБНУ МГНЦ им. Н.П. Бочкова или ФНКЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева методом секвенирования по Сенгеру, секвенирования «клинического» экзоза NGS (иммунологическая панель) или полноэкзомного секвенирования ДНК (WES). Генетический диагноз удалось установить у 43 (97,7%) из 44 детей.

Осуществлен анализ четырех групп детей: тяжелая комбинированная иммунная недостаточность/комбинированная иммунная недостаточность (I) — 9 (20,4%), комбинированные иммунодефициты с синдромальными признаками (II) — 25 (56,8%), заболевания иммунной дисрегуляции (III) — 5 (11,4%), нарушения продукции антител (IV) — 5 (11,4%). Медиана возраста детей составила 46,5 [10,5; 69,5] мес, гендерное соотношение (мальчики/девочки) — 28/16.

Исследование одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет».

Определение профиля TREC/KREC проводили во время установления диагноза и госпитализации пациентов в ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница» (г. Ставрополь) или ФНКЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева (г. Москва) в период с 2017 по 2023 г.

Исследование TREC и KREC выполняли в лаборатории ФНКЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева (г. Москва), использовалась цельная кровь с ЭДТА по описанной ранее методике [5]. Экстракцию ДНК осуществляли с помощью набора РИБО-преп «Амплисенс», Россия. Для идентификации TREC/KREC применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (АБВ-test, Россия) на системе CFX 96 Real-Time PCR System («Bio Rad», США). Число копий TREC/KREC рассчитывали на 10^5 лейкоцитов. Для оценки аномальных TREC/KREC использовали референсные значения для диагностики первичных иммунодефицитов компании-производителя тест-систем с учетом возраста пациента. Осуществлен анализ профилей TREC/KREC в зависимости от групп и нозологических форм первичных иммунодефицитов.

Для статистической обработки полученных данных применяли программу Statistica 10. С учетом непараметрического распределения показатели представляли в виде медианы и интерквартильного размаха [IQR]. При оценке межгрупповых различий использовали тесты Крускала–Уоллиса, Данна.

Результаты

В группу I включены 9 детей (см. таблицу). У пациентов с фенотипом комбинированной иммунной недостаточности ТВ+ (мутации генов *IL2RG* и *JAC3*) TREC или не определялись (П2, П3, П4), или были близки к нулевым значениям (П1). У детей с фенотипом ТВ- (мутации генов *ADA*, *DCLREIC*, *MTHFD1*) оказались снижены как TREC, так и KREC. Близкие к неопределяемым уровни TREC отмечены при синдроме Artemis (П6) и неуточненной комбинированной иммунной недостаточности (П7), крайне низкое содержание KREC отмечено у ребенка с дефектом метаболизма фолатов (П9). Медиана показателей TREC в этой группе была минимальной — 1 [1,0; 9,0] копий на 10^5 L, однако статистически значимые различия определялись только по сравнению с дефектами антителообразования ($p=0,002$; рис. 1).

Группа комбинированных иммунодефицитных состояний с синдромальными признаками оказалась самой многочисленной, в нее вошли пациенты с делецией хромосомы 22 ($n=5$), синдромами Якобсона ($n=1$), Джоба ($n=1$), Вискотта–Олдрича ($n=2$), хондродисплазии с гипоплазией волос ($n=1$), Шимке ($n=2$), атаксии-телеангиэктазии ($n=9$), Неймеген ($n=2$), Швахмана–Даймонда ($n=2$). Показатели TREC ниже порогового уровня определялись у 9 (36%) пациентов, KREC — у 2 (8%), TREC и KREC одновременно — у 3 (12%), что позволяло верифицировать первичный иммунодефицит у 56% детей.

Медиана TREC при иммунодефицитных состояниях с синдромальными признаками была низкой и составила 96 [36; 380] копий на 10^5 L. При этом статистически значимые различия наблюдались только по сравнению с группой дефектов антителообразования ($p=0,001$; см. рис. 1).

Среди пациентов с синдромом ДиДжорджи показатели ниже пороговых значений выявлены у 2 из 5 детей (П12, П13). Крайне низкие показатели TREC и низкие KREC определялись у ребенка с микроделецией хромосомы 11 Якобсона (П15).

Аномальные TREC получены у 5 (55,6%) из 9 детей с атаксией-телеангиэктазией, в том числе показатели, равные нулю (П22). Нулевые KREC установлены у 2 пациентов с атаксией-телеангиэктазией из одной семьи (П26, П27), обладателей гомозиготной мутации в 50-м экзоне гена *ATM* с.7375C>T.

У одного из детей с синдромом Неймеген (П18) определялось крайне низкое число копий TREC, у другого (П19) — нулевые показатели KREC. Нормальное количество TREC и KREC отмечено у 2 пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича (П16, П17) и единственной в нашем регистре пациентки с синдромом Джоба (П21) — обладательнице мутации в гене *STAT3*. Низкими были показатели TREC

у детей с синдромом Шимке (П30, П31), в том числе до неопределяемых значений.

Нулевые показатели TREC получены у пациента (П34) с синдромом Мак-Кьюсика (иммунодефицитное состояние с гипоплазией хрящей и волос). Нормальные уровни TREC/KREC определялись у 2 детей с синдромом Швахмана–Даймонда.

В группу болезней иммунной дисрегуляции включены 5 детей, в том числе 1 пациент с аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом, 2 — с семейным гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом и 2 — с гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом и нарушениями пигментного обмена — синдромами Германски–Пудлака и Грисцелли (см. таблицу). У 3 из 5 пациентов определялось некоторое снижение TREC, у одного — снижение KREC по сравнению с возрастными значениями у здоровых детей, при этом все показатели превышали пороговый уровень для первичных иммунодефицитов.

Медиана показателей TREC у детей с дефектами иммунной регуляции была выше, чем у пациентов с комбинированной иммунной недостаточностью и синдромальными иммунодефицитными состояниями, однако статистически значимые различия регистрировались только по отношению к группе гуморальных иммунодефицитных состояний ($p=0,03$).

В группу дефектов антителообразования вошли 3 детей с болезнью Брутона и по одному ребенку с аутосомно-рецессивным дефектом антителообра-

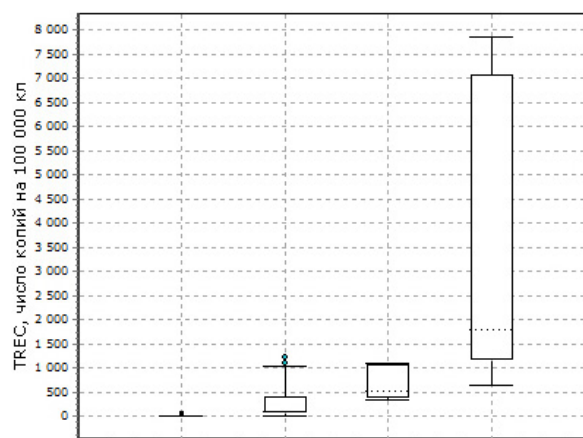


Рис. 1. Показатели TREC в зависимости от группы первичного иммунодефицита. Составлено авторами.

I — тяжелая комбинированная иммунная недостаточность/комбинированная иммунная недостаточность; II — комбинированные иммунодефициты с синдромальными признаками; III — болезни иммунной дисрегуляции; IV — нарушения антителообразования. p — достоверность различий по сравнению с группой IV (критерий Крускала–Уоллиса, Дана).

Fig. 1. TREC indicators depending on the primary immunodeficiency group.

I — combined immunodeficiency; II — combined immunodeficiency with syndromic signs; III — diseases of immune dysregulation; IV — disorders of antibody formation. p — reliability of differences compared with group IV (Kruskal–Wallis criterion, Dana).

зования и гипер-IgM-синдромом. У 4 из 5 пациентов с нарушениями синтеза антител (П40, П41, П42, П43) отмечалось резкое снижение показателей KREC, в том числе до нуля (П43). У пациента с гипериммуноглобулинемией М (П44) определены высокие уровни как TREC, так и KREC, что соответствовало нормальным показателям Т- и В-лимфоцитов.

Самое низкое число KREC закономерно установлено у пациентов с комбинированной иммунной недостаточностью и нарушениями антителообразования, однако межгрупповые различия не были статистически значимыми (рис. 2).

Обсуждение

Аномальные уровни TREC/KREC обнаружены у 61,4% детей с врожденными дефектами иммунитета, в том числе у 100% пациентов в группе комбинированной иммунной недостаточности, у 56% — в группе комбинированных иммунодефицитных состояний с синдромальными признаками, у 4 из 5 детей с гуморальными иммунодефицитными состояниями. В структуре отдельных нозологических форм анализ TREC/KREC был результативным у 55,6% детей с атаксией-телеангиоэктазией, у 40% — с синдромом ДиДжорджи, у пациентов с синдромами Якобсона, Неймеген, Шимке, X-сцепленной и аутосомно-рецессивной агаммаглобулинемиями. Нормальные показатели TREC/KREC получены у пациентов с гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом, а также в единичных в нашем регистре слу-

чаях болезней Вискотта–Олдрича, гипер-IgE (HIES) и гипер-IgM.

В целом определение TREC и KREC позволило диагностировать все случаи комбинированных иммунодефицитных состояний из нашего регистра, что закономерно при классических комбинированных иммунодефицитных состояниях [6–8].

По данным различных исследовательских центров количество диагностированных случаев делеции хромосомы 22 (del 22q11.2) методом TREC/KREC существенно варьируется из-за особенностей в методологии анализа TREC, пороговых значений и алгоритмов наблюдения [9]. Аномальные TREC имеются лишь у 14–19% детей с синдромом ДиДжорджи, что связано с иммунологической и клинической гетерогенностью, а также неполной пенетрантностью парциальной формы заболевания [9]. Однако именно эти пациенты демонстрируют долгосрочное ухудшение функции тимуса и подвержены тяжелым вирусным инфекциям в условиях глубокой Т-клеточной лимфопении, а при долгосрочном наблюдении у таких детей реализуются аллергические и аутоиммунные заболевания [9–11].

Близкие к неопределяемым показатели TREC и низкие KREC выявлены у ребенка с синдромом Якобсона. Механизм, посредством которого терминальная делеция хромосомы 11 способствует развитию иммунодефицита, до конца не изучен. Предполагается, что иммунная недостаточность возникает преимущественно из-за потери генов ETS (*ETSI*), который участвует в дифференцировке Т- и В-лимфоцитов [12].

В нескольких программах неонатального скрининга ранее было показано, что атаксия-телеангиоэктазия может быть диагностирована методом анализа TREC/KREC [13]. Поскольку иммунодефицит имеется примерно у 60% пациентов с синдромом Луи–Бар, низкий уровень TREC в скрининге определяется не всегда. В исследовании J. Mallott и соавт. [14] установлено, что 7 (54%) из 13 новорожденных с синдромом Луи–Бар имели низкие показатели TREC и Т-клеточную лимфопению. При этом отсутствовали статистически значимые связи между числом копий TREC и фенотипическими особенностями у пациентов с атаксией-телеангиоэктазией, такими как возраст появления неврологических симптомов, количество CD3-клеток, сроки диагностической задержки [14]. В исследовании А.В. Mandola и соавт. [15], напротив, продемонстрирован высокий уровень выявления пациентов с ранним дебютом атаксии-телеангиоэктазии, имеющих глубокие иммунологические и неврологические нарушения. Низкие значения TREC и их корреляция с уровнем альфа-фетопротеина служили предикторами тяжелого течения.

В работе О. Voyachuk и соавт. [16] у 84% пациентов с синдромом Луи–Бар в возрасте от 3 до 14 лет показатели TREC были значительно ниже,

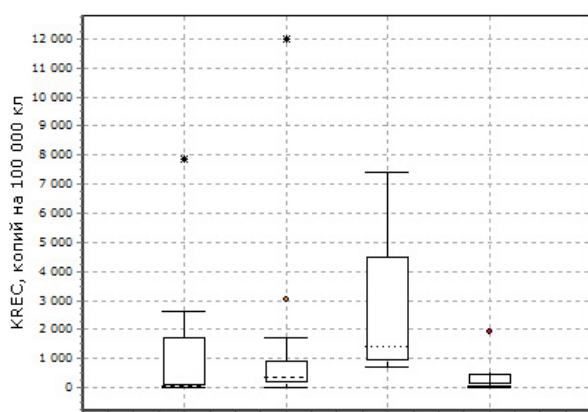


Рис. 2. Показатели KREC в зависимости от группы первичного иммунодефицита. Составлено авторами.

I — тяжелая комбинированная иммунная недостаточность/комбинированная иммунная недостаточность; II — комбинированные иммунодефициты с синдромальными признаками; III — болезни иммунной дисрегуляции; IV — нарушения антителообразования. *p* — достоверность различий по сравнению с группой IV (критерий Крускала–Уоллиса, Дана).

Fig. 2. KREC indicators depending on the primary immunodeficiency group.

I — combined immunodeficiency; II — combined immunodeficiency with syndromic signs; III — diseases of immune dysregulation; IV — disorders of antibody formation. *p* — reliability of differences compared with group IV (Kruskal–Wallis criterion, Dana).

чем в контрольной группе, в то время как низкие KREC определялись у 48% пациентов. Установлена корреляция между показателями TREC и абсолютным содержанием CD4+ [16]. По данным L. Shakerian и соавт. [7], показатели TREC были снижены у 82,3% детей, KREC — у 63,2%.

Несмотря на то что в настоящее время не существует радикального лечения атаксии-телеангиоэктазии, ранняя диагностика заболевания позволяет избежать инфекционных осложнений, вовремя провести генетическое консультирование семьи, принять меры для профилактики онкологических заболеваний [17, 18]. Результативность анализа TREC/KREC у 2 наших больных с синдромом Неймеген совпала с представленными ранее данными [5, 19, 20]. В исследовании E. Degirara и соавт. [5] число копий TREC было низким у 75% пациентов с синдромом Неймеген, а уровень KREC — у 85%, что встречалось чаще, чем аберрантные показатели Т-лимфоцитов и сывороточных иммуноглобулинов. Аномальные уровни KREC коррелировали с аутоиммунными и онкологическими осложнениями [5].

У 2 пациентов нашего регистра с синдромом Вискотта—Олдрича показатели TREC и KREC были нормальными. Немногочисленные работы, посвященные анализу TREC/KREC при синдроме Вискотта—Олдрича, выполнены на ограниченных по объему выборках, что не позволяет сделать однозначные выводы. В исследовании O. Jilkina и соавт. показатели TREC у пациентов с синдромом Вискотта—Олдрича были нормальными, по данным S. Vorte и соавт. и W. Li и соавт., — низкими, чему, вероятно, способствует снижение функции тимуса за счет дефектной регуляции субклеточного расположения F-актина в Т-лимфоцитах [20–22]. Вместе с тем число пациентов с низкими показателями TREC не превышало 40% [7].

Как и предполагалось, девочка с мутацией в гене *STAT3* имела нормальное количество копий обоих маркеров. В недавних исследованиях не обнаружено влияния дефектной экспрессии *STAT3* на дифференцировку Т-лимфоцитов, обладатели мутаций в гене *STAT3* имели высокие уровни обоих биомаркеров [7].

Низкие показатели TREC у 2 пациентов с синдромом Шимке сопровождались глубокой Т-клеточной лимфопенией. По данным Российского национального регистра первичных иммунодефицитов все 19 детей с иммуно-костной дисплазией Шимке демонстрировали низкие показатели TREC и нормальные KREC, что коррелировало с дефицитом Т-лимфоцитов [23].

Показатели TREC и KREC у младенцев с синдромом Швахмана—Даймонда не отличались от нормальных, что закономерно, поскольку этот синдромальный иммунодефицит относится к рибосомопатиям

и реализуется тяжелой нейтропенией, а также аномальным хемотаксисом нейтрофилов при сохранных показателях Т- и В-лимфоцитов [24].

Нулевые показатели TREC получены у пациента (П34) с синдромом Мак-Кьюсика (иммунодефицитное состояние с гипоплазией хрящей и волос), что согласуется с данными, представленными ранее [21]. Нормальные значения TREC/KREC при семейных формах гемофагоцитарного лимфоцитоза и синдроме Грисцелли показаны и в других исследованиях [8].

Несколько исследовательских центров в программах неонатального скрининга продемонстрировали высокую диагностическую значимость KREC для верификации болезни Брутона и других агаммаглобулинемий [6, 8, 13, 20]. Имеются данные об эффективности этого метода и при постнатальной диагностике дефектов анителообразования [6, 25]. У пациента с гипер-IgM отмечались высокие уровни как TREC, так и KREC, что соответствовало нормальным показателям Т- и В-лимфоцитов и подтверждалось результатами других исследований [6, 20].

Заключение

Количество копий TREC и KREC используют в качестве маркеров дифференцированных Т- и В-лимфоцитов, недавних эмигрантов из тимуса и красного костного мозга. Анализ TREC/KREC широко применяют в неонатальном скрининге на первичные иммунодефициты, но не всегда используют в повседневной клинической практике региональных стационаров у пациентов сстораживающимися признаками первичных иммунодефицитов.

На когорте пациентов с первичными иммунодефицитами регистра Ставропольского края показано, что эффективность скринингового анализа TREC/KREC достигает 61,4%. Несмотря на ограничения анализа TREC/KREC при диагностике отдельных вариантов первичных иммунодефицитных состояний, таких как синдромы Вискотта—Олдрича, Джоба, гипер-IgM, указанный метод признан эффективным для выявления детей с тяжелыми врожденными дефектами иммунитета в постнатальном периоде и должен применяться в многопрофильном стационаре у пациентов сстораживающимися признаками первичных иммунодефицитов.

Ограничения исследования. К основным ограничениям настоящего исследования относится небольшое число пациентов с распространенными нозологическими формами первичными иммунодефицитами (синдромы Вискотта—Олдрича, Неймеген, Джоба). Вместе с тем совпадение полученных нами данных с результатами более крупных когортных исследований свидетельствует об эффективности анализа TREC/KREC для скрининговой постнатальной диагностики первичных иммунодефицитов.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Franco J.L., Holland S. M. et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022; 42(7): 1473–1507. DOI: 10.1007/s10875-022-01289-3
2. Puck J.M. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia. *Immunol Rev* 2019; 287(1): 241–252. DOI: 10.1111/IMR.12729.
3. Al Ghamdi A., Pachul J.W., Al Shaqqa A., Fraser M., Watts-Dickens A., Yang N. et al. A Unique Comprehensive Model to Screen Newborns for Severe Combined Immunodeficiency—An Ontario Single-Centre Experience Spanning 2013–2023. *Genes* 2024; 15(7): 920. DOI: 10.3390/genes15070920
4. Seidel M.G., Kindle G., Gathmann B., Quinti I., Buckland M., van Montfrans J. et al. ESID Registry Working Party and collaborators. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7(6): 1763–1770. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.02.004
5. Deripapa E., Balashov D., Rodina Y., Laberko A., Myakova N., Davydova N.V. et al. Prospective Study of a Cohort of Russian Nijmegen Breakage Syndrome Patients Demonstrating Predictive Value of Low Kappa-Deleting Recombination Excision Circle (KREC) Numbers and Beneficial Effect of Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT). *Front Immunol* 2017; 8: 807. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00807
6. Kwok J.S.Y., Cheung S.K.F., Ho J.C.Y., Tang I.W.H., Chu P.W.K., Leung E.Y.S. et al. Establishing Simultaneous T Cell Receptor Excision Circles (TREC) and K-Deleting Recombination Excision Circles (KREC) Quantification Assays and Laboratory Reference Intervals in Healthy Individuals of Different Age Groups in Hong Kong. *Front Immunol* 2020; 11: 1411. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01411
7. Shakerian L., Nourizadeh M., Badalzadeh M., Fazlollahi M.R., Shokouhi Shoormasti R., Saghafi S. et al. Investigating the Variation of TREC/KREC in Combined Immunodeficiencies. *Iranian J Allergy, Asthma, Immunol* 2021; 20(4): 402–412.
8. Dasouki M., Jabr A., Aldakheel G., Elbadaoui F., Alazami A.M., Al-Saud B. et al. TREC and KREC profiling as a representative of thymus and bone marrow output in patients with various inborn errors of immunity. *Clin Exper Immunol* 2020; 202(1): 60–71. DOI: 10.1111/cei.13484
9. Framme J.L., Lundqvist C., Lundell A.C., van Schouwenburg P.A., Lemarquis A.L. Long-Term Follow-Up of Newborns with 22q11 Deletion Syndrome and Low TRECs. *J Clin Immunol* 2022; 42(3): 618–633. DOI: 10.1007/s10875-021-01201-5
10. Biggs S.E., Gilchrist B., May K.R. Chromosome 22q11.2 Deletion (DiGeorge Syndrome): Immunologic Features, Diagnosis, and Management. *Cur Allergy Asthma Reports* 2023; 23(4): 213–222. DOI: 10.1007/s11882-023-01071-4
11. Mustillo P.J., Sullivan K.E., Chinn I.K., Notarangelo L.D., Haddad E., Davies E.G. et al. Clinical Practice Guidelines for the Immunological Management of Chromosome 22q11.2 Deletion Syndrome and Other Defects in Thymic Development. *J Clin Immunol* 2023; 43(2): 247–270. DOI: 10.1007/s10875-022-01418-y
12. Dalm V.A., Driessen G.J., Barendregt B.H., van Hagen P.M., van der Burg M. The 11q Terminal Deletion Disorder Jacobsen Syndrome is a Syndromic Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2015; 35(8): 761–768. DOI: 10.1007/s10875-015-0211-z
13. Barbaro M., Ohlsson A., Borte S., Jonsson S., Zetterström R.H., King J. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden—a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. *J Clin Immunol* 2017; 37(1): 51–60. DOI: 10.1007/s10875-016-0347-5
14. Mallott J., Kwan A., Church J., Gonzalez-Espinosa D., Lorey F., Tang L.F. et al. Newborn screening for SCID identifies patients with ataxia telangiectasia. *J Clin Immunol* 2013; 33(3): 540–549. DOI: 10.1007/s10875-012-9846-1
15. Mandola A.B., Reid B., Sirror R., Brager R., Dent P., Chakroborty P. et al. Ataxia Telangiectasia Diagnosed on Newborn Screening—Case Cohort of 5 Years' Experience. *Front Immunol* 2019; 10: 2940. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02940
16. Boyarchuk O., Makukh H., Kostyuchenko L., Yarema N., Hainboniuk I., Kravets V. TREC/KREC levels in children with ataxia-telangiectasia. *Immunol Res* 2021; 69(5): 436–444. DOI: 10.1007/s12026-021-09216-1
17. Barmettler S., Coffey K., Smith M.J., Chong H.J., Pozos T.C., Seroogy C.M. et al. Functional Confirmation of DNA Repair Defect in Ataxia Telangiectasia (AT) Infants Identified by Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency (NBS SCID). *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9(2): 723–732.e3. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.08.008
18. Lee A.S.E., Abraham R.S., Basu A., Lederman H., Cunningham-Rundles C. ATAXIA-telangiectasia with compound heterozygous ATM mutations discovered on abnormal newborn screen. *Clin Immunol* 2024; 265: 110294. DOI: 10.1016/j.clim.2024.110294
19. Хачирова Л.С., Барычева Л.Ю., Кубанова Л.Т., Гордукова М.А., Голубева М.В., Караулов А.В. Диагностическая значимость эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов для диагностики иммунных нарушений у новорожденных. *Медицинский вестник Северного Кавказа* 2019; 14(4): 631–635. [*Khachirova L.S., Barycheva L.Yu., Kubanova L.T., Gordukova M.A., Golubeva M.V., Karaulov A.V. Diagnostic Significance Of Excision Rings Of T- And B-Cell Receptor Gene Rearrangement For The Diagnosis Of Immune Disorders In Newborns. Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza* 2019; 14(4): 631–635. (in Russ.)] DOI: 10.14300/MNNC.2019.14157
20. Borte S., von Döbeln U., Fasth A., Wang N., Janzi M., Winiarski J. et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood* 2012; 119(11): 2552–2555. DOI: 10.1182/blood-2011-08-371021
21. Jilkina O., Thompson J.R., Kwan L., Van Caesele P., Rockman-Greenberg C., Schroeder M.L. Retrospective TREC testing of newborns with Severe Combined Immunodeficiency and other primary immunodeficiency diseases. *Mol Genet Metab Reports* 2014; 1: 324–333. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2014.07.003.
22. Li W., Sun X., Wang J., Zhao Q., Dai R., Wang Y. et al. Defective thymic output in WAS patients is associated with abnormal actin organization. *Scie Reports* 2017; 7(1): 11978. DOI: 10.1038/s41598-017-12345-z
23. Mukhina A., Rodina Yu., Aksenova M., Khalikova D., Rummyantsev A., Machneva E. et al. Schimke Immuno-Osseous Dysplasia In Russia. 20 The Biennial Meeting Of The European Society For Immunodeficiencies. (PDF) SCHIMKE IMMUNO-OSSEOUS DYSPLASIA IN RUSSIA (researchgate.net) / Ссылка активна на 13.10.2024.
24. Kawashima N., Oyarbide U., Cipolli M., Bezzerri V., Corey S.J. Shwachman-Diamond syndromes: clinical, genetic, and biochemical insights from the rare variants. *Haematologica* 2023; 108(10): 2594–2605. DOI: 10.3324/haematol.2023.282949.
25. Барычева Л.Ю., Хачирова Л.С., Кубанова Л.Т., Калужин О.В., Голубева М.В. Определение эксцизионных колец реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов для диагностики первичных иммунодефицитов: ретроспективный обзор клинических случаев. *Вопросы*

практической педиатрии 2019; 14(6): 98–103. [Barycheva L.Yu., Khachirova L.S., Kubanova L.T., Kalyuzhin O.V., Golubeva M.V. Detection of T-cell receptor excision circles and κ -deleting recombination excision circles in the diag-

nosis of primary immunodeficiency: retrospective analysis of clinical cases. Voprosy prakticheskoi pediatrii 2019; 14(6): 98–103. (in Russ.)] DOI: 10.20953/1817–7646–2019–6–98–103

Поступила: 26.08.24

Received on: 2024.08.26

Благодарности: Авторы выражают благодарность заместителю директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессору, д.м.н. А.Ю. Шербине, зав. отделением клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России Ю.А. Родиной за помощь в верификации диагноза и обследовании больных.

Acknowledgments: The authors express their gratitude to the Deputy Director of the Institute of Hematology, Immunology, and Cell Technologies of the Federal State Budgetary Institution “NMIC DGOI named after Dmitry Rogachev” of the Ministry of Health of Russia, Professor, Doctor of Medical Sciences A.Yu. Shcherbina, and Head of the Clinical Immunology Department, Yu.A. Rodina, for their assistance in verifying the diagnosis and examining patients.

Конфликт интересов:

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

Conflict of interest:

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