
Т.В. Гнедько ¹, М. В. Белевцев ², Д.В. Остроушко ¹, Н.Г. Капура ¹,
С.А. Берестень ¹, Е.В. Полякова ², О.Н. Печкурова ¹

1– г. Минск, ГУ РНПЦ «Мать и дитя»,

2 – г. Минск, ГУ РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МОЛЕКУЛ ДНК TREC/KREC У ЗДОРОВЫХ ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) – это гетерогенная группа врожденных дефектов клеток иммунной системы, которые клинически проявляются в виде рецидивирующих инфекционных и аутоиммунных заболеваний разной степени тяжести, а также злокачественных новообразований [1]. ПИДС могут быть обнаружены с помощью определения кольцевых структур ДНК Т- и В-клеточного рецептора (TREC и KREC), образующихся при реаранжировке Т- и В-клеточного рецепторов лимфоцитов и содержащих определенные константные последовательности нуклеотидов, в сухом пятне крови на карте Гатри методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Цель исследования. Определить и оценить число кольцевых молекул ДНК Т- и В-клеточного рецептора у здоровых доношенных новорожденных в сухих пятнах крови.

Материал и методы исследования. Проведено обследование 30 здоровых доношенных новорожденных, находившихся в родильном отделении ГУ РНПЦ «Мать и дитя». Определение гематологических показателей периферической крови выполнялось на автоматическом гематологическом анализаторе «Pentra-60, Horiba AbX» (Франция). Определение количества копий TREC и KREC проводилось методом ПЦР «в режиме реального времени» на базе амплификатора Bio-Rad CFX 96 (Bio-Rad, USA) при поддержке программного обеспечения Realtime RCR Data Analysis (Bio-Rad, США) с использованием набора праймеров и зондов, а также плазмидных стандартов. Результаты обработаны с использованием программного обеспечения Windows-XP, Excel-97. При условии нормального распределения данных значения представляли как

$M \pm SD$, где M – средняя арифметическая, SD – стандартное квадратичное отклонение. Если распределение не подчинялось нормальному, данные представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($LQ-UQ$), что характеризует среднее развитие признака в группе.

Результаты и обсуждение. Средний гестационный возраст младенцев был $39,45 \pm 0,70$ недель. Масса тела при рождении составила $3509,67 \pm 327,20$ г. Мальчиков было 18/60%, девочек – 12/40%. От первой беременности родилось 9/30,0% детей, от второй – 8/26,7%, от третьей и более – 13/43,3%. От первых родов родился каждый второй (50,0%) ребенок, от вторых – 9/30,0%, от третьих и более – 6/20,0%. Большинство (18/60,0%) детей были рождены через естественные родовые пути.

Состояние всех обследованных детей при рождении было удовлетворительным. Оценка по шкале Апгар на первой и пятой минуте жизни составила 8 баллов, соответственно. Отпадение пупочного остатка отмечалось на $Me=6,0$ (5,0-6,0) сутки жизни. Средняя продолжительность пребывания младенцев в родильном отделении составила $Me=7,0$ (6,0-8,0) койко/дней. Все дети выписаны домой.

Обследованным детям проведено определение гематологических показателей периферической крови при рождении и на момент забора сухой капли крови (3 сутки жизни). Отмечалось значимое снижение числа лейкоцитов ($25,76 \pm 6,13 \times 10^9/\text{л}$ против $14,78 \pm 2,29 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,001$), сегментоядерных нейтрофилов ($54,73 \pm 11,01\%$ против $42,25 \pm 10,43\%$, $p < 0,001$), а также достоверное увеличение количества эозинофилов ($2,80 \pm 1,95\%$ против $4,10 \pm 2,02\%$, $p < 0,05$), лимфоцитов ($30,13 \pm 10,66\%$ против $38,80 \pm 9,41\%$, $p < 0,01$), моноцитов ($7,60 \pm 3,00\%$ против $10,90 \pm 3,35\%$, $p < 0,01$) к третьим суткам жизни.

Проведена количественная оценка молекул ДНК Т- и В-клеточного рецептора TREC/KREC. Полученные значения сравнивали с референтными показателями для здоровых индивидов возрастной категории 1–7 суток жизни (TREC – 10^3 – $4,5 \times 10^5$, KREC – 5×10^2 – 3×10^5 на один млн клеток периферической крови). Установлено, что минимальное количество копий TREC составило 2 206 максимальное – 112 224 копий на 1 млн лейкоцитов в сухом пятне ($Me=23\ 499,0$ (10 230,0–47 272,5)). Минимальное содержание KREC было 2 700 копий, максимальное количество – 137 662 копий на 1 млн

лейкоцитов в сухом пятне ($Me=13\ 898,5$ ($6\ 691,0-32\ 291,2$)), что соответствовало референтным значениям [1].

Заключение. У здоровых доношенных новорожденных отмечалось значимое снижение числа лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, а также достоверное увеличение количества эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов к третьим суткам жизни. Количество молекул ДНК TREC на третьи сутки жизни составило $Me=23\ 499,0$ ($10\ 230,0-47\ 272,5$) копий, KREC – $Me=13\ 898,50$ ($6\ 691,00-32\ 291,2$) копий на один млн лейкоцитов в сухом пятне.

Литература

1. Стёганцева, М.В. Метод определения кольцевых молекул ДНК TREC и KREC для оценки функционального состояния иммунной системы у пациенто детского возраста. Инструкция по применению / М.В. Стёганцева, Е.А. Полякова, И.Е. Гурьянова, И.С. Сакович, С.О. Шарапова, С.Н. Алешкевич, Ю.С. Жаранкова, Н.В. Минаковская, М.В. Белевцев, О.В. Алейникова. – 2018. – 16 с.
