

# Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(25)

2021 г.

## Учредитель

Государственное учреждение  
«Республиканский научно-  
практический центр  
радиационной медицины  
и экологии человека»

**Журнал включен в** Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

**Журнал зарегистрирован**  
Министерством информации  
Республики Беларусь,  
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 12.04.21  
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.  
Гарнитура «Times New Roman».  
Печать цифровая. Тираж 130 экз.  
Усл. печ. л. 23. Уч.-изд. л. 13,85.  
Зак. 28/1.

Издатель ГУ «Республиканский  
научно-практический центр  
радиационной медицины и  
экологии человека»  
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП  
«Редакция газеты  
«Гомельская праўда»  
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

## Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

## Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора),  
В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н., доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент), А.В. Воропаева (к.б.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент), А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мицура (д.м.н., доцент), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент), А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), И.О. Стома (д.м.н., доцент), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент)

## Редакционный совет

Е.Л. Богдан (МЗ РБ, Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., чл.-кор. НАН, акад. НАМН Украины, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

## Технический редактор

С.Н. Никонович

**Адрес редакции** 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,  
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала  
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97  
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: [mbp@rcrm.by](mailto:mbp@rcrm.by)

© Государственное учреждение  
«Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека», 2021

№ 1(25)

2021

# Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

**Founder**

Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

Journal registration  
by the Ministry of information  
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

**ISSN 2074-2088**

**Обзоры и проблемные статьи**

- А.В. Рожко**  
Чернобыльская катастрофа 35 лет спустя: медицинские аспекты 6
- В.М. Мицура**  
Применение секвенирования нового поколения (NGS) в медицине 13

**Медико-биологические проблемы**

- А.П. Бирюков, И.В. Веялкин, Э.П. Коровкина, Ю.В. Орлов, Е.В. Васильев, И.Г. Дибиргаджиев**  
Сравнительный анализ показателей заболеваемости злокачественными новообразованиями пациентов лечебно-профилактических учреждений ФМБА России и населения, проживающего на загрязненных радионуклидами территориях Беларуси, и смертности от них 19
- К.Н. Бuzдалкин, Н.Г. Власова, А.В. Рожко**  
Ингаляционное поступление радионуклидов в зонах воздействия АЭС 29
- В.В. Евсеенко, В. Дроздович, А.В. Рожко, И.В. Веялкин, В.Ф. Миненко, Т.С. Кухта, С.Н. Трофимик, Р.И. Гракович, О.Н. Полянская, Л.С. Старостенко, Е. Кахун, М. Хэтч, М. Литтл, А.В. Бреннер, Е. Остроумова, К. Мабучи**  
Состояние здоровья и оценка доз, поглощенных в щитовидной железе, в белорусской когорте лиц, подвергшихся облучению внутриутробно и в раннем возрасте после аварии на ЧАЭС 36
- В.В. Кляус, Е.В. Николаенко, С.И. Сычик, О.М. Жукова**  
Разработка программы аварийного радиационного мониторинга вокруг Белорусской АЭС и АЭС сопредельных государств 47
- Е.В. Кравченко, Е.В. Санько-Счисленок, О.Н. Саванец, И.В. Жебракова, Р.Д. Зильберман, Н.А. Бизунок, Б.В. Дубовик**  
Влияние дипептида Pro-Gly на зоосоциальное поведение аутбредных и инбредных мышей 60

**Reviews and problem articles**

- A.V. Rozhko**  
Chernobyl disaster 35 years later: medical aspects
- V.M. Mitsura**  
The application of next-generation sequencing (NGS) in medicine

**Medical-biological problems**

- A.P. Biryukov, I.V. Veyalkin, E.P. Korovkina, Yu.V. Orlov, E.V. Vasiliev, I.G. Dibirgadzhiyev**  
Comparative analysis of cancer incidence and mortality rates of patients of therapeutic and preventive institutions of FMBA Russia and population living on radiactively contaminated territories of the Republic of Belarus
- K.N. Buzdalkin, N.G. Vlasova, A.V. Rozhko**  
Inhalation of radionuclides in the areas of nuclear power plant exposure
- V.V. Yauseyenko, V. Drozdovitch, A.V. Rozhko, I.V. Veyalkin, V.F. Minenko, T.S. Kukhta, S. Trofimik, R. Grakovitch, O.N. Polyanskaya, L. Starastsenka, E.K. Cahoon, M. Hatch, M.P. Little, A.V. Brenner, E. Ostroumova, K. Mabuchi**  
Assessment of health effects and reliability of radiation thyroid doses for belarusian persons exposed *in utero* and during early life to Chernobyl fallout
- V. Kliaus, A. Nikalayenka, S. Sychik, O. Zhukova**  
Development of the emergency radiation monitoring program around the Belarusian NPP and NPP of the neighboring states
- E.V. Kravchenko, E.V. Sanko-Chislenok, O.N. Savanets, I.V. Zhebrakova, R.D. Zilberman, N.A. Bizunok, B.V. Dubovik**  
Effect of the pro-gly dipeptide on the zosocial behavior of outbred and inbred mice

<b>В.А. Мельник</b> Типологические особенности формирования соматического статуса городских школьников	67	<b>V.A. Melnik</b> Typological features of somatotic status formation of urban schoolchildren	
<b>Е.В. Снытков, В.Н. Кипень, С.Б. Мельнов</b> Роль генетического полиморфизма и межгенного взаимодействия в повышении вероятности развития патологической игровой зависимости	72	<b>E.V. Snytkov, V.N. Kipen, S.B. Melnov</b> Role of genetic polymorphism and inter-gene interference in increased probability of the pathological game dependence development	
<b>О.П. Сергеева, Н.А. Артемова, Е.Н. Александрова</b> Противоопухолевая эффективность химиотерапии в условиях общей гипертермии в эксперименте <i>in vivo</i>	81	<b>O.P. Sergeeva, N.A. Artemova, E.N. Alexandrova</b> Antitumor efficacy of thermochemotherapy <i>in vivo</i> experiment	
<b>В.А. Филонюк, В.В. Шевляков, Е.В. Чернышова, Г.И. Эрм, А.В. Буйницкая, С.А. Баранов</b> Токсиколого-гигиеническое обоснование безопасного производства и применения микробного препарата «Корнеплюс»	88	<b>V. Filanyuk, V. Shevlyakov, E. Chernyshova, G. Erm, A. Buinitskaya, S. Baranav</b> Toxicologo-hygienic substantiation of safe production and use of microbial preparation «Corneplus»	
<b>Л.Н. Эвентова, А.Н. Матарас, Г.Н. Евтушкова, Е.А. Дрозд, Н.Г. Власова</b> Методический подход к прогнозу доз облучения населения в ситуации существующего облучения	96	<b>L.N. Eventova, A.N. Mataras, G. N. Evtushkova, E.A. Drozd, N. G. Vlasova</b> Methodological approach for predicting the exposure doses to the population in the existing exposure situation	

### ***Клиническая медицина***

<b>А.Г. Булгак, И.Б. Моссе, О.В. Зотова, Т.С. Королева, Н.В. Николаева, А.Л. Гончар</b> Роль генетического полиморфизма в развитии инфаркта миокарда среди мужчин из Республики Беларусь	102
<b>С.В. Зыблева</b> Особенности экспрессии рецепторов ранней и поздней активации Т-лимфоцитов у пациентов после трансплантации почки	113
<b>А.В. Коротаев, Е.П. Науменко, Л.Е. Коротаева</b> Возможности диагностики и прогнозирования патологического ремоделирования миокарда левого желудочка	122

### ***Clinical medicine***

<b>A.G. Bulgak, I.B. Mosse, O.V. Zotova, T.S. Koroleva, N.V. Nikolaeva, A.L. Gonchar</b> The role of genetic polymorphism in the development of myocardial infarction in men from the Republic of Belaurus	
<b>S.V. Zybleva</b> Features of expression of receptors of early and late activation of T-lymphocytes in patients after kidney transplantation	
<b>A.V. Korotaev, E.P. Naumenko, L.E. Korotaeva</b> Diagnostic and predictive capabilities pathological remodeling of the left ventricular myocardium	

- М.В. Линков, И.В. Веялкин, Д.К. Новик, Н.Н. Усова**  
Эпидемиологическая характеристика множественной миеломы в Республике Беларусь за 2010-2019 годы 130
- Е.А. Полякова, Д.В. Остроушко, М.В. Стёганцева, И.Е. Гурьянова, Ю.В. Тимохова, М.В. Белевцев**  
Оценка содержания кольцевых молекул ДНК Т- и В-клеточного рецептора (TREC/KREC) у новорожденных различного гестационного возраста 135
- И.Г. Савастеева, Ю.И. Ярец, М.Г. Русаленко**  
Компоненты метаболического риска у молодого населения Гомельской области 143
- М.М. Шепетько, И.О. Стома**  
Пролонгированное выделение вируса SARS-CoV-2 при инфекции COVID-19 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями 151
- Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, О.П. Логинова**  
Особенности чувствительности к антимикробным лекарственным средствам изолятов бактерий, полученных из раневого отделяемого пациентов с обширными и локальными ранами 157

**Обмен опытом**

- Ж.М. Козич, В.Н. Мартинков, Ю.И. Ярец, Ж.Н. Пугачева, Д.А. Близин, Л.А. Смирнова**  
Галектин-3 как маркер поражения почек при моноклональной гаммапатии неуточненного значения и множественной миеломе у жителей Гомельского региона Беларуси 168
- Э.В. Могилевец, П.В. Гарелик, Л.Ф. Васильчук, Р.Э. Якубцевич, И.Н. Невген**  
Трансъюгулярное портосистемное шунтирование в собственной модификации (Предварительное сообщение о серии случаев) 175

**Experience exchange**

- Zh.M. Kozich, V.N. Martinkov, Yu.I. Yarets, Zh.N. Pugacheva, D.A. Blizin, L.A. Smirnova**  
Galectin-3 as a marker of kidney damage in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in residents of the Gomel region of Belarus
- E.V. Mahiliavets, P.V. Harelik, L.F. Vasilchuk, R.E. Yakubceovich, I.N. Nevgen**  
Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in our own modification (Case series preliminary report)

## ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ КОЛЬЦЕВЫХ МОЛЕКУЛ ДНК T- И B-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА (TREC/KREC) У НОВОРОЖДЕННЫХ РАЗЛИЧНОГО ГЕСТАЦИОННОГО ВОЗРАСТА

<sup>1</sup>ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии», г. Минск, Беларусь;

<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ «Мать и дитя», г. Минск, Беларусь

В данном исследовании были определены границы нормальных значений TREC и KREC в периферической крови 58 здоровых доношенных новорожденных. Количество копий TREC составило 3383 – 238848 копии ( $Q_1$ - $Q_3$ ), KREC: 2729 – 236953 копии на 1 млн лейкоцитов ( $Q_1$ - $Q_3$ ). Исследовано влияние гестационного возраста 117 новорожденных, родившихся преждевременно (22,5-37,8 недель), на количество данных маркеров. Показано, что количество как TREC, так и KREC возрастало с увеличением гестационного возраста. Выявлено, что вес как доношенных, так и недоношенных новорожденных различной гестационной зрелости не влияет на количество TREC и KREC.

**Ключевые слова:** новорожденные, T- и B-клеточный рецептор, TREC, KREC, ПЦР в реальном времени

### Введение

Состояние иммунитета новорожденно-го определяет выраженность адаптивных реакций. Иммунная система является одним из важнейших механизмов адаптации организма, направленным на поддержание гомеостаза. Новорожденные, в особенности недоношенные со сроком гестации менее 37 недель, подвержены высокому риску инфекционной патологии, которая является основной причиной смертности ввиду незрелости врожденного и адаптивного звеньев иммунитета [1-4]. Данные проявления иммунодефицита описаны в литературе как «физиологические», однако, важным этапом является разграничение врожденного патологического процесса, выражаемого «сбоем» иммунной системы, от физиологического состояния иммунитета в периоде новорожденности [5-6].

Дифференцировать данные состояния возможно путем количественного определения кольцевых молекул дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) T- и B-клеточного рецептора TREC (от англ.

T-cell receptor excision circles) и KREC (от англ. kappa-deleting recombination excision circles), как суррогатных маркеров тимических мигрантов и/или наивных T- и B-лимфоцитов.

TREC – кольцевые фрагменты ДНК, которые образуются в результате реаранжировки генов T-клеточного рецептора во время процесса дифференцировки T-лимфоцитов в тимусе. Важным условием для успешной перестройки альфа локуса является удаление дельта цепи T-клеточного рецептора (ТКР). Делеция ТКР-дельта необходима в T-клеточной дифференцировке и служит сигналом окончательного формирования  $\alpha\beta$ ТКР. Удаление ТКР-дельта, как правило, происходит посредством специфической реаранжировки между  $\delta$ Rec и  $\Psi$ Ja, что приводит к образованию специфических  $\delta$ Rec- $\Psi$ Ja TREC, которые обнаружены более, чем в 70%  $\alpha\beta$ T-лимфоцитов [7, с.610-611]. TREC не подвергаются дальнейшей репликации в делящихся клетках, таким образом представляют собой стабильные кольцевые фрагменты ДНК, которые являются сурро-

гатным маркером недавно образованных Т-лимфоцитов [7 с. 611]. В свою очередь, KREC являются продуктом рекомбинации генов В-клеточного иммуноглобулинового рецептора. В результате чего происходит удаление из генома клетки локуса Ig каппа (IGK) с образованием кольца, содержащего каппа-делецированный элемент – KREC [8, 9]. KREC также является косвенным маркером эффективности развития В-клеточного звена в онтогенезе иммунной системы.

Использование TREC и KREC нашло широкое применение при проведении пилотных исследований по скринингу новорожденных в Соединенных Штатах Америки (США), а также во многих европейских государствах. За пределами США скрининг новорожденных на лимфопению и первичный иммунодефицит (ПИД) проводится в Израиле, Норвегии, Швейцарии, Швеции, Финляндии, Германии, Исландии, Испании (Каталония), Италии (Тоскана), Китае, Тайване. Так к примеру, в Израиле в 2015-2017 годы было обследовано 290864 новорожденных, благодаря чему было выявлено 13 детей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (ТКИН), тогда как в Тайване за 7 лет (2010-2017) было обнаружено 7 случаев ТКИН из 920398 новорожденных, подвергшихся скринингу, что отражает различный уровень заболеваемости ТКИН в разных странах [10-17].

Для того, чтобы определить наличие Т и/или В-клеточной лимфопении у новорожденного и отнести его к группе риска по ПИД, необходимо знать нормативные показатели TREC и KREC. Отклонения от нормативных значений – повод провести более детальное иммунологическое и молекулярно-генетическое обследование новорожденного. Границы нормальных популяционных значений количества копий TREC и KREC были разработаны в США, Иране, Чехии, а также в Российской Федерации (РФ) [10, 16]. В литературе существует множество вариантов диагностических значений TREC и KREC. Так, минимальный пороговый уровень для TREC колеблется от <25 до <250 копий различ-

ными методами определения [17, 18]. Для KREC конкретный пороговый уровень не установлен. По данным иранских авторов, в результате проведенного исследования определения количества копий TREC и KREC в разных возрастных группах (от 0 до 60 лет) количество копий TREC для новорожденных составило 246 копий/3 мм сухого пятна крови, для KREC это диапазон составил 81 копию/3 мм сухого пятна крови [19]. По данным чешских исследователей нижняя граница нормы TREC и KREC для новорожденных составила 1400 копий/1 мкл ДНК и 700 копий/1мкл ДНК соответственно [16]. Российские исследователи установили нормированные значения для новорожденных: TREC – 2690-2840 копий и KREC – 2700-2900 копий на 105 ядродержащих клеток [20].

В связи с наличием различных методик детекции и подсчета количества копий TREC и KREC, а также ограниченностью выборки, нами была поставлена задача установить диапазон физиологических значений для доношенных здоровых новорожденных и выявить, влияет ли гестационный возраст новорожденных детей на количество TREC и KREC. В настоящем исследовании мы использовали количественный метод, стандартизированный по количеству копий TREC/KREC на количество клеток.

**Цель:** Определить границы физиологических значений TREC и KREC в периферической крови здоровых доношенных новорожденных. Определить количество копий TREC и KREC у недоношенных новорожденных различной гестационной зрелости. Выявить возможную корреляционную взаимосвязь между количеством TREC/KREC и весом при рождении у доношенных и недоношенных новорожденных.

### **Материал и методы исследования**

#### **Пациенты**

Были исследованы образцы периферической крови, взятой из пятки 58 здо-

ровых доношенных новорожденных: 32 мальчиков и 26 девочек сроком гестации от 38,5 до 41 недели, весом 2840-4290 г. Оценка по шкале Апгар не менее 8 на 1 минуте жизни. На момент рождения и в раннем неонатальном периоде ни у кого из детей не было зафиксировано инфекционных заболеваний. Для выявления влияния гестационного возраста на количество копий TREC и KREC в исследование были включены 117 недоношенных новорожденных: 70 мальчиков и 47 девочек сроком гестации 22,5-37,8 недель, весом 710-3020 г. Оценка по шкале Апгар для группы недоношенных новорожденных на первой минуте жизни составила  $7,00 \pm 0,12$  баллов, на пятой минуте –  $8,00 \pm 0,0$  балла. Количество копий TREC и KREC определялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

Периферическая кровь из пятки новорожденных была набрана методом «сухой капли» на фильтровальной бумаге типа TFN (MUNKTELL, Швеция). Все новорожденные проходили первичный осмотр на базе государственного учреждения «Республиканский научно-практического центр «Мать и дитя»» (ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»»). На базе «Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии» всем новорожденным было выполнено определение количества TREC и KREC. Все исследования были проведены в рамках научно-исследовательской темы (НИР № госрегистрации 20191042, задание 02.01. «Разработать и внедрить метод отдельных нарушений, вовлекающих иммунный механизм у недоношенных новорожденных с использованием кольцевых молекул ДНК T- и B-клеточного рецептора (TREC/KREC)» при согласовании с Этическим комитетом ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»»). На участие в исследовании было получено информированное согласие от родителей/законных представителей новорожденных детей.

### **Пробоподготовка материала для исследования**

В качестве материала для исследования использовали геномную ДНК, выделенную из «сухого пятна» крови. Из пятна крови на фильтровальной бумаге выбивали 3 диска при помощи ручного дырокола и далее проводили выделение методом лизиса с дальнейшей фенол-хлороформной экстракцией. Концентрацию выделенной ДНК измеряли на спектрофотометре DeNovix (США). Качество ДНК определяли по показателям 260/280 и 230/260.

### **Определение количества копий TREC и KREC методом реакции ПЦР в «реальном времени»**

Количество TREC и KREC определяли методом ПЦР с детекцией результатов в «режиме реального времени» на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). В качестве внутреннего контроля использовали ген альбумин (ALB). Для количественной оценки копий TREC и KREC и контрольного гена ALB использовали серийные разведения линейаризированной плазмидной ДНК, содержащих вставки TREC, KREC и альбумин, соответственно, с концентрацией 102, 103, 104, 105 копий в 5 мкл. Данные анализировали с помощью программного обеспечения Real-time RCR Data Anals (Bio-Rad, США). Количество копий TREC/KREC рассчитывалось по формуле:  $[1000000 \times \text{среднее TREC (KREC)} / \text{среднее ALB} / 2]$ .

### **Статистический анализ данных**

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «GraphPad Prizm 6.0». Выявление корреляционной взаимосвязи между событиями осуществлялось методом рангового корреляционного анализа по Спирмену. Корреляционную зависимость считали статистически значимой при  $r_s$  от 0,73 до 0,96;  $p < 0,05$ . Нормальность распределения данных в выборке проверяли при помощи критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test), На основании варьирования показателя и за-

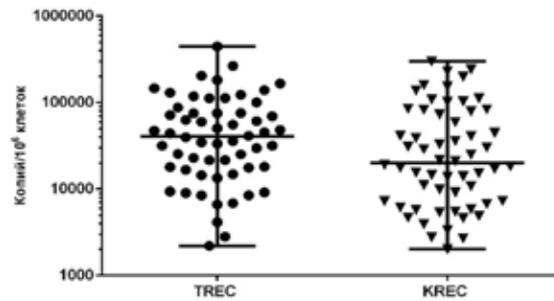
кономерности распределения использовали непараметрические методы представления данных в виде медианы и интерквартильного размаха ( $Q_1$ - $Q_3$ ). Значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

У 58 доношенных новорожденных было выполнено определение количества копий эписомальной ДНК Т-и В-клеточного рецептора TREC и KREC. Полученные значения варьировали в диапазоне для TREC от 2206 копий до 446 618 копий ( $Me = 40538,5$ ), для KREC в диапазоне от 2012 до 298 778 ( $Me = 20010$ ) копий на 1 млн клеток периферической крови, что показано на рисунке 1.

Далее был проведен расчёт диапазона нормальных значений. Данный диапазон охватывает 95% всех референтных значений полученных результатов. Количество копий TREC составило от 3383 до 238848 копии на 1 млн лейкоцитов ( $Q_1$ - $Q_3$ ). Количество KREC составило от 2729 до 236953 копии на 1 млн лейкоцитов ( $Q_1$ - $Q_3$ ). В исследованиях, опубликованных к настоящему времени, количество TREC и KREC пересчитывают как на мкл крови, 3 мм выбитого дыроколом пятна крови, так и на количество лейкоцитов. Мы сравнили полученные нами показатели с значениями TREC и KREC, полученных в исследованиях Гордукова М.А. и др. Так, рассчитанные показатели в РФ на количество ядросодержащих клеток, отличаются несколько большими значениями: (TREC CI 95%: 2690-2840, KREC CI 95%: 2700-2900) копий на 105 ядросодержащих клеток [20]. Однако в исследовании Гордукова М.А. и др. были проанализированы образцы крови 2739 новорожденных. В нашем исследовании по причине небольшой выборки истинно референтные значения не вычислялись.

С целью исследования влияния гестационного возраста на количественные показатели TREC и KREC было проведено исследование содержания этих маркеров



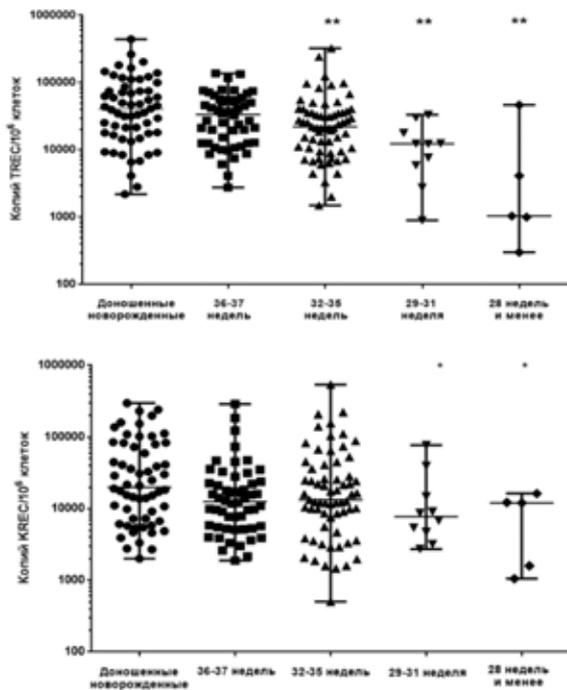
**Рисунок 1** – Показатели диапазона полученных значений количества копий TREC и KREC на 1 млн лейкоцитов у доношенных новорожденных. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха, минимума-максимума значений

в группах детей с различной гестационной зрелостью: 36-37 недель (детей 46, исследований 49), 32-35 недель (детей 58, исследований 65), 29-31 недели (детей 9, исследований 10), 28 недель и менее (детей 4, исследований 5). Полученные значения TREC варьировали в диапазоне от 301 копии до 324 520 копий на млн лейкоцитов ( $Me = 23950,0$ ). Значения KREC варьировали в диапазоне от 504 копий до 540 080 копий на млн лейкоцитов ( $Me=12339$ ). Как и в результатах, полученных другими исследователями (Дерябина и др., Kanegae M. et al., Vogel B. et al., Rechavi E. et al.), количество TREC нарастало с увеличением гестационного возраста новорожденных, что, вероятно, связано с пополнением пула Т-клеток по мере «созревания» иммунной системы новорожденного [12 с. 5, 21-24]. Так медиана значений TREC составила 1043 копии в группе недоношенных новорожденных 28 недели и менее, 12423 (29-31 недель), 22148 (32-35 недель), 34834 (36-37 недель), оставаясь значимо ниже ( $p < 0,01$ ) у недоношенных новорожденных с 28 по 36 неделю гестации в сравнении с значениями TREC доношенных детей. Медиана KREC у детей 28 недели составила 12044 копии, 7759 (29-31 недель), 13254 (32-35 недель), 13931 (36-37 недель), оставаясь достоверно ниже у недоношенных детей с 28 недели и менее по 32 неделю ( $p < 0,05$ ) в сравнении с доношенными

детьми. Данная картина обусловлена тем, что во время онтогенеза плода перестройки генов иммуноглобулинов происходят раньше, чем перестройки генов ТКР, что согласуется с более ранним появлением В-лимфоцитов, чем Т-лимфоцитов в периферической крови плода (рисунок 2) [25].

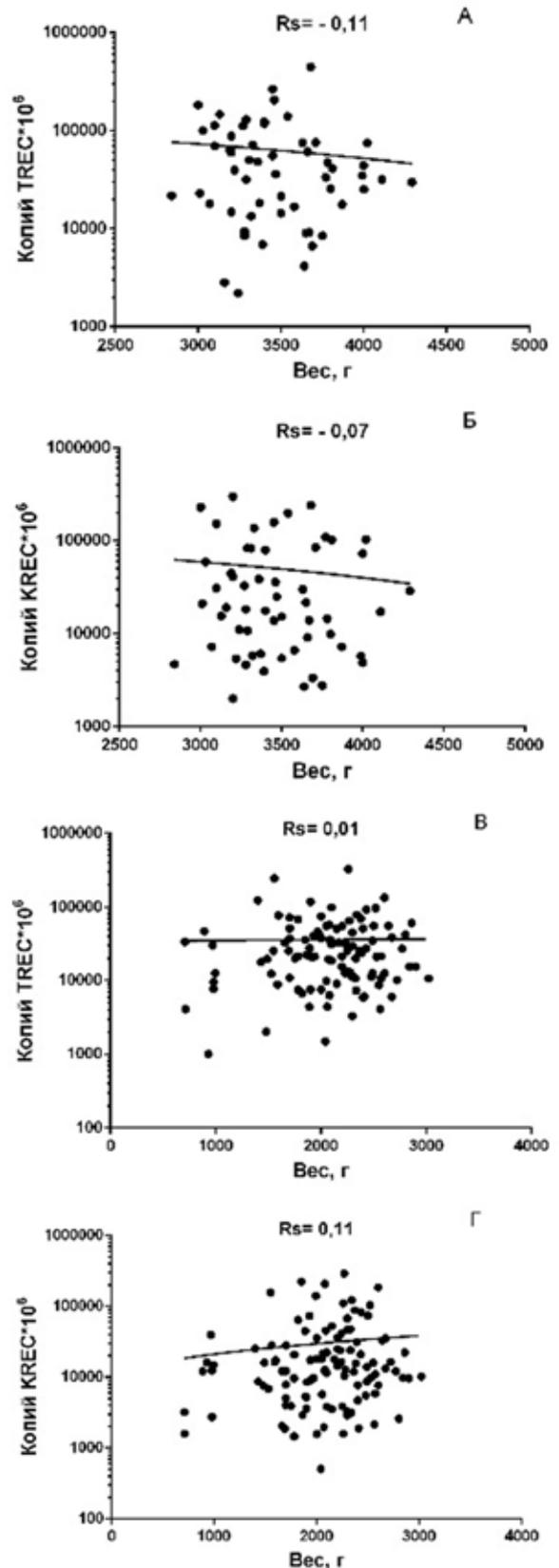
Так же наблюдались значимые межгрупповые различия между новорожденными разного срока гестации: ТREC у детей 28 недели были ниже в сравнении с группами новорожденных 32-35 недель ( $p < 0,02$ ), 36-37 недель ( $p < 0,005$ ), в группе 29-31 недели значения были ниже по отношению к группе 32-35 недель ( $p < 0,04$ ) и 36-37 недель ( $p < 0,002$ ). Межгрупповых различий по количеству KREC выявлено не было.

Методом корреляционного анализа по Спирмену не было выявлено влияния веса (рисунок 3) на ТREC и KREC как в группе



Данные представлены в виде медианы, минимума-максимума значений и интерквартильного размаха.  
\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с группой доношенных новорожденных

**Рисунок 2** – Количество копий ТREC и КREC в группах недоношенных новорожденных различной гестационной зрелости



А, Б – доношенные новорожденные, В, Г – недоношенные новорожденные различной гестационной зрелости.

**Рисунок 3** – Влияние веса на количество ТREC и КREC в группах

доношенных новорожденных, так и в группе детей с неполным сроком гестации.

### **Заключение**

По результатам проведенного исследования установлен диапазон физиологических значений TREC и KREC для здоровых доношенных новорожденных. Количество копий TREC составило от 3383 до 238848 копии на 1 млн лейкоцитов ( $Q_1$ - $Q_3$ ). Количество KREC составило от 2729 до 236953 копии на 1 млн лейкоцитов ( $Q_1$ - $Q_3$ ).

Основополагающим для исключения лимфопении и, как следствие, первичного иммунодефицита является минимальное значение каждого показателя, так как оно является определяющим для диагностики.

Определенный в данном исследовании диапазон значений TREC и KREC у здоровых детей может использоваться в качестве диагностических границ при лабораторном исследовании на наличие дефекта T- и B-клеточного звеньев иммунитета.

Установлено, что количество копий TREC и KREC нарастало с увеличением гестационного возраста.

У недоношенных новорожденных с 28 недели и менее по 36 неделю гестации медиана значений TREC достоверно ниже ( $p < 0,01$ ) в сравнении со значениями TREC доношенных детей. С 36 недели уровень содержания TREC статистически не отличается от доношенных детей.

У недоношенных детей с 28 недели и менее по 32 неделю гестации значения KREC характеризуются достоверно низкими показателями ( $p < 0,05$ ) в сравнении с доношенными детьми.

Не было выявлено влияние веса как доношенных, так и недоношенных новорожденных различной гестационной зрелости на величину значений TREC и KREC.

### **Библиографический список**

1. Percentiles of Lymphocyte Subsets in Preterm Infants According to Gestational Age Compared to Children and Adolescents / S. Huenecke [et al.] // *Human Immunology*. – 2016. – № 84. – P. 291-297.

2. Melville, J.M. The immune consequences of preterm birth [Electronic resource] / J.M. Melville, T.J.M. Moss // *Frontiers in neuroscience*. – 2013. – № 49. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3659282/pdf/fnins-07-00079.pdf>. – Date of access: 31.07.2020.

3. Durandy A. Ontogeny of the immune system. / A. Durandy // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. – 2003. – № 30. – P. 222-227.

4. Innate immunity in human newborn infants: prematurity means more than immaturity / T. Strunk [et al.] // *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. – 2011. – № 24. – P. 25-31.

5. Особенности врожденного и адаптивного иммунитета недоношенных детей с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы / Л.С. Устьянцева [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2017. – Т. 62, № 3. – С. 59-65.

6. Снимщикова, И.А. Курс лекций по прикладной иммунологии: учеб. Пособие / И.А. Снимщикова. – Орел: Орловский гос. мед. ун-т, 2015. – 120 с.

7. Puck, J.M. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: The winner is T-cell receptor excision circles / J.M. Puck // *J Allergy Clin Immunol*. – 2012. – Vol. 129. – P. 607-616.

8. Verbsky, J. The Wisconsin approach to newborn screening for severe combined immunodeficiency/ J. Verbsky, M. Thakar, J. Routes // *Journal of allergy and clinical immunology*. – 2012. – Vol. 129. – P. 622-627.

9. Serana, F. Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies / F. Serana, M. Chiarini, C. Zanotti // *Journal of translational medicine*. – 2013. – Vol. 11. – P. 1-11.

10. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States / A. Kwan [et al.] // *JAMA*. – 2014. Vol. 312. – P. 729-738.

11. Incidence of severe combined immunodeficiency through newborn screening in a Chinese population / Y.H. Chien [et al.] // Journal Formos Medical Association. – 2015. – Vol. 114. – P. 12-16.
12. First Year of Israeli Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency – Clinical Achievements and Insights [Electronic resource] / E. Rechavi [et al.] // Frontiers Immunology. – 2017. – Vol. 8. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5682633/> – Date of access: 31.07.2020.
13. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in Taiwan / Y.-H. Chien [et al.] // International Journal of Neonatal Screening. – 2017. – Vol. 3. – P. 1-12.
14. Nourizadeh, M. Newborn screening using TREC/KREC assay for severe T and B cell lymphopenia in Iran / M. Nourizadeh, L. Shakerian, S. Borte // Scandinavian Journal of Immunology. – 2018. Vol. 88. – P. 1-9.
15. First Universal Newborn Screening Program for Severe Combined Immunodeficiency in Europe. Two-Years' Experience in Catalonia (Spain) [Electronic resource] / A.A. Ramírez [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2019. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6818460/pdf/fimmu-10-02406.pdf>. – Date of access: 31.07.2020.
16. Universal newborn screening for severe combined immunodeficiency [Electronic resource] / M. van der Burg [et al.] // Frontiers in Pediatrics. – 2019. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6759820/pdf/fped-07-00373.pdf>. – Date of access: 31.07.2020.
17. The TREC/KREC Assay for the Diagnosis and Monitoring of Patients with DiGeorge Syndrome [Electronic resource] / E. Froňková [et al.] // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 8. – №12. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4259354/pdf/pone.0114514.pdf>. – Date of access: 1.08.2020.
18. Thymic output: a bad TREC record / M.D. Hazenberg [et al.] // Nature immunology. – 2003. – Vol.4. – P. 97-99.
19. Determining Laboratory Reference Values of TREC and KREC in Different Age Groups of Iranian Healthy Individuals / L. Shakerian [et al.] // Iranian Journal of Allergy Asthma and Immunology. – 2019. – Vol. 2. – № 18. – P. 143-152.
20. Определение референсных интервалов TREC и KREC для скрининга новорожденных с иммунодефицитными состояниями в РФ / М.А. Гордукова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 3. – С. 527-538.
21. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency in Brazil / M Kane-gae [et al.] // Jornal de Pediatria. – 2016. – № 92. – P. 374-380.
22. Newborn Screening for SCID in New York State: Experience from the First Two Years [Electronic resource] / B.H. Vogel [et al.] // Journal of Clinical Immunology. – 2014. – № 3. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090801/pdf/nihms595483.pdf>. – Date of access: 1.08.2020.
23. Дерябина, С.С. Определение нормативных значений TREC и KREC в сухих пятнах крови новорожденных разного срока гестации в Свердловской области / С.С. Дерябина, И.А. Тузанкина, В.Н. Шершнева // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 85-98.
24. Timely and spatially regulated maturation of B and T cell repertoire during human fetal development [Electronic resource] / E. Rechavi [et al.] // Science Translational Medicine. – 2015. № 276. – Mode of access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25717098/> – Date of access: 04.08.2020.
25. Zelm, M.C. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B-cell expansion / M.C. Zelm, M. van der Burg, J.J. M. van Dongen // The Journal of experimental medicine. – 2007. – Vol. 204. – P. 645-655.

**E.A. Polyakova, D.V. Ostrousko, M.V. Stegantseva,  
I.E. Guryanova, Y.V. Tsimokhava, M.V. Belevtsev**

**EVALUATION OF THE CONTENT OF CIRCULAR DNA  
MOLECULES T- AND B-RECEPTOR (TREC / KREC) IN  
NEWBORNS OF DIFFERENT GESTATIONAL AGES**

In this study, the normal range for TREC and KREC in the peripheral blood of 58 healthy full-term infants was determined. The number of TREC copies was 3383-238848 copies (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>), KREC 2729-236953 copies per 1 million leukocytes (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>). The influence of the gestational age of 117 newborns born prematurely (22,5-37,8 weeks) on the number of these markers was studied. It was shown that the amount of both TREC and KREC increased with increasing gestational age. It was revealed that the weight of both full-term and premature newborns of different gestational maturity does not affect the number of TREC and KREC

**Key words:** *newborn, T- and B-cell receptor, TREC, KREC, real-time PCR*

*Поступила 18.10.20*