

НАО «Медицинский университет Астана»

УДК: 616.72-002.772:612.013

МПК: G01 N 33/53; A 61 M 5/145

Алтын Ақжүніс Балапанқызы

**ОЦЕНКА СКРИНИНГОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВА
TREC/KREC У НОВОРОЖДЕННЫХ ИЗ ГРУППЫ РИСКА**

7М10102–««Медицина»

Диссертация на соискание академической
степени магистра медицинских наук

Научный руководитель: PhD, доцент: Шнайдер К.В.

Научный консультант: д.м.н., проф. Моренко М.А.

Астана, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	3
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
СПИСОК РИСУНКОВ И ТАБЛИЦ	8
ВВЕДЕНИЕ	9
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Современные подходы к анализу проблемы врождённых ошибок иммунитета.....	14
1.2. Клинико-иммунологическая характеристика ключевых нозологических форм врожденных ошибок иммунитета	18
1.2.1. Дефекты антителообразования	19
1.2.2. Комбинированные иммунодефициты с поражением Т- и В-клеточного звена: особенности тяжёлой комбинированной иммунной недостаточности.....	20
1.3. Применение и значение скрининга на основе TREC и KREC в мировой практике.....	21
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	25
2.1 Дизайн и база исследования	25
2.2 Этапы проведения	25
2.3 Характеристика выборки	25
2.4 Этические аспекты	25
2.5 Анамнестические данные	27
2.6 Количественное определения молекул ДНК TREC и KREC в сухих пятнах крови	27
2.7 Анкетирование	33
2.8 Методы статистической обработки	33
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ НОВОРОЖДЕННЫХ И ИХ МАТЕРЕЙ ИЗ ГРУППЫ РИСКА	34
3.1.Исследование клинических, анамнестических и антропометрических показателей	34
Глава 4. ОЦЕНКА СКРИНИНГОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВА TREC/KREC У НОВОРОЖДЕННЫХ ИЗ ГРУППЫ РИСКА	45
4.1 Количественная оценка кольцевых структур TREC/KREC.....	46
Заключение.....	55
Выводы	57
Практические рекомендации	58
Список использованных источников	59
Приложение А	69
Приложение Б	71
Приложение В	73

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Клинический протокол «Врожденные ошибки иммунитета у детей»: утв. Протоколом заседания Экспертной комиссии по вопросам развития здравоохранения Мдсм 1ё Ёбинистерства Здравоохранения Республики Казахстан 30 ноября 2015 года, №18.

ГОСТ 7.32-2001 (Межгосударственный стандарт). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 15.101-98 (Межгосударственный стандарт). Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

ГОСТ 7.1-84. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12-93. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.54-88. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Представление численных данных о свойствах веществ и материалов в научно-технических документах. Общие требования.

Конституция Республики Казахстан: принята 30 августа 1995 года.

Кодекс Республики Казахстан. О здоровье народа и системы здравоохранения: принят 18 сентября 2009 года, №193–IV (с изменениями на 19 января 2011 года).

Закон Республики Казахстан. О системе здравоохранения: принят 4 июня 2003 года, №430.

Закон Республики Казахстан. Об охране здоровья граждан: принят 7 июля 2006 года, №170-III.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении номенклатуры медицинских и фармацевтических специальностей: утв. 12 февраля 2007 года, №97.

Указ Президента Республики Казахстан. О системе государственного планирования в Республике Казахстан: утв. 18 июня 2009 года, №827.

Постановление Правительства Республики Казахстан. Об утверждении плана мероприятий по реализации единой национальной системы здравоохранения Республики Казахстан: утв. 4 августа 2009 года, №1174.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении Правил оказания высокоспециализированной медицинской помощи: утв. 20 декабря 2010 года, №986.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении положения об организациях здравоохранения, оказывающих аллергологическую помощь детям республики Казахстан: утв. 23 июля 2010 года, №532.

Закон Республики Казахстан. Об образовании: принят 27 июля 2007 года, №319-III.

Закон Республики Казахстан. О науке: принят 18 февраля 2011 года, №407-VI.

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении Государственных общеобязательных стандартов послевузовского образования по медицинским и фармацевтическим специальностям: утв. 16 октября 2009 года, №533.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Врожденные ошибки иммунитета (ВОИ) – представляют собой группу иммунодефицитных состояний, обусловленных как наследственными, так и внутриутробно приобретёнными нарушениями. Чаще всего клинические признаки таких состояний появляются либо сразу после рождения, либо в течение первых двух лет жизни, что соответствует ранней манифестации врождённых иммунодефицитов.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – это молекулярно-биологический метод, позволяющий осуществлять многократное воспроизведение целевых последовательностей нуклеиновых кислот, присутствующих в биологических образцах, даже в крайне малых количествах.

Общая вариабельная иммунная недостаточность (ОВИН) – относится к первичным иммунодефицитным патологиям, характеризующимся нарушениями гуморального иммунного ответа. Заболевание способно проявляться как в детстве, так и во взрослом возрасте, отличаясь разнообразием генетических аномалий.

Иммуноглобулин А (IgA) – класс иммуноглобулинов, составляющий примерно 15–20% всех сывороточных антител, а также присутствующий в секретах слизистых оболочек. Основной биологической функцией IgA является обеспечение иммунной защиты дыхательной, мочеполовой и пищеварительной систем от инфицирования.

Иммуноглобулин Е (IgE) – данный класс иммуноглобулинов в норме практически отсутствует в свободной форме в плазме крови. IgE играет роль в защите от паразитарных инфекций, а также участвует в формировании аллергических реакций, реализуемых путём связывания с базофилами и тучными клетками, вызывая высвобождение медиаторов воспаления, таких как гистамин и серотонин.

Иммуноглобулин G (IgG) – доминирующий по концентрации в сыворотке крови иммуноглобулин, составляющий 70–80% всей фракции антител и до 20% общего белка плазмы. IgG активен в механизмах вторичного иммунного ответа и антитоксического иммунитета, продуцируется В-лимфоцитами. Благодаря малому размеру, IgG единственный из иммуноглобулинов, способный проходить через плаценту, обеспечивая пассивную защиту новорождённых в первые месяцы жизни.

Иммуноглобулин М (IgM) – антитела, синтезируемые В-лимфоцитами при первичном контакте с антигеном, составляют порядка 10% от всех иммуноглобулинов. В процессе дифференцировки пре-В-клеток происходит формирование IgM, которые сначала экспрессируются на поверхности клеток в качестве антиген-распознающих рецепторов.

TACI (Transmembrane Activator and CAML Interactor) – трансмембранный рецептор, участвующий в регуляции функций В-клеток и

взаимодействующий с кальциевым модулятором и лигандами семейства циклофилина.

BAFF-R (B-cell Activating Factor Receptor) – рецептор фактора активации В-лимфоцитов из семейства TNF-рецепторов, расположенный на хромосоме 22q13, играющий ключевую роль в выживании и пролиферации В-клеток.

ICOS (Inducible Co-Stimulator) – костимулирующий рецептор Т-клеток, активируемый при иммунном ответе, структурно и функционально схож с CD28.

DEFI (French National Study Group on Primary Immunodeficiencies) – французская национальная исследовательская группа, занимающаяся изучением первичных иммунодефицитов.

LOCID (Late-Onset Combined Immunodeficiency) – подтип ОВИН, характеризующийся дефицитом Т-клеточного звена, манифестирующийся во взрослом возрасте с клинически значимой недостаточностью Т-лимфоцитов.

Т-рецепторные эксцизионные кольца (TREC) – кольцевидные структуры, образующиеся в ходе перестройки генов Т-клеточного рецептора (TCR) в тимусе, представляющие собой маркеры наивных Т-лимфоцитов, недавно вышедших из тимуса и ещё не участвовавших в процессах клеточной пролиферации.

В-клеточные эксцизионные кольца (KREC) – аналогичные TREC структуры, формирующиеся при перестройке генов В-клеточного рецептора в костном мозге, служат маркерами уровня созревания В-клеточного звена иммунной системы на этапе эмбрионального и постнатального развития.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВОЗ	–Всемирная организация здравоохранения
ИДС	–иммунодефицитное состояние
ОВИН	–общая вариабельная иммунная недостаточность
ОРВИ	–острые респираторные вирусные инфекции
ВОИ	–Врожденные ошибки иммунитета
ПЦР	–полимеразноцепная реакция
ТКИН	–тяжелая комбинированная иммунная недостаточность
ARA	–аутосомно-рецессивная агаммаглобулинемия
BAFF-R	–фактор активатора рецепторов В-клеток, член семейства рецепторов TNF, расположен на хромосоме 22q13
CD3+ CD19-	–Т-лимфоциты зрелые
CD19+CD3-	–В-лимфоциты
CD3+CD4+	–Т-клетки хелперы
CD3+ CD8+	–Т-цитотоксические
CD3+HLA-DR+	–Т-лимфоциты активированные
CD3- CD16+/CD56+	–NK-клетки
CD3+ CD16+/CD56+	–Т-NK-клетки
DEFI	–французская исследовательская группа по первичным иммунодефицитам
ICOS	–индуцируемый Т-клеточный костимулятор
IL17RA	–интерлейкин 17
IUIS	–международный союз иммунологических сообществ
JFM	–фонд Джеффри Моделл
JMCN	–сеть центров Джеффри Моделл
KREC	–В-клеточные эксцизионные кольца
LOCID	–позднее начало комбинированного иммунодефицита
М	–среднее арифметическое значение
М	–стандартная ошибка среднего значения
TAC1	–трансмембранный активатор и партнёр кальциевого модулятора и лиганда циклофилина
TREC	–Т-рецепторные эксцизионные кольца
XLA	–агаммаглобулинемия сцепленная с X-хромосомой
ВЭБ	–Вирус Эпштейн-Барра
ВПГ	–Вирус простого герпеса
ЦМВ	–Цитомегаловирус
ТГСК	–Трансплантация стволовой гемопоэтической клетки
НАО	–Наследственный ангионевротический отёк
ХГБ	–Хроническая гранулематозная болезнь
ВВИГ	–Внутривенные иммуноглобулины
ПКИГ	–Подкожные иммуноглобулины

СПИСОК РИСУНКОВ И ТАБЛИЦ

Список таблиц:

- Таблица 1 — Методы исследования и объем выполненной работы
Таблица 2 — Приготовление реакционной смеси
Таблица 3 — Интерпретация результатов
Таблица 4 — Показатели ALB, TREC, KREC в стандартных наборах
Таблица 5 — Параметры оценки состояния новорождённых
Таблица 6 — Описательная статистика уровней TREC/KREC у новорождённых с проверкой нормальности распределения (критерий Шапиро–Уилка).

Список рисунков:

- Рисунок 1 — Дизайн исследования
Рисунок 2 — Программа амплификации
Рисунок 3 — Калибровка ALB
Рисунок 4 — Калибровка KREC
Рисунок 5 — Калибровка TREC
Рисунок 6 — Характеристика новорожденных по гендерному составу
Рисунок 7 — Метод оплодотворения
Рисунок 8 — Способ родоразрешения
Рисунок 9 — Срок гестации
Рисунок 10 — Масса тела при рождении
Рисунок 11 — Рост при рождении
Рисунок 12 — Тип вскармливания
Рисунок 13 — Врождённые аномалии
Рисунок 14 — Заболевания в неонатальном периоде
Рисунок 15 — Болезни матерей во время беременности
Рисунок 16 — Заболевания матерей, состоящих на диспансерном учете
Рисунок 17 — Распределение по категориям TREC и KREC
Рисунок 18 — Гистограммы распределения значений TREC и KREC
Рисунок 19 — Результаты сравнения средних значений TREC и KREC между группами новорождённых по полу, наличию врождённых аномалий и заболеваниям матери.
Рисунок 20 — Сравнение физиологических показателей по категориям TREC и KREC
Рисунок 21 — Результаты дисперсионного анализа (ANOVA)
Рисунок 22 — Корреляционная матрица взаимосвязи уровней TREC и KREC с физиологическими параметрами новорождённых

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы.

Врожденные ошибки иммунитета (ВОИ) представляют собой гетерогенную группу наследственных заболеваний, обусловленных дефектами различных компонентов иммунной системы. На сегодняшний день установлено более 300 генов, мутации в которых приводят к развитию данных состояний [1].

Согласно данным последних исследований, клинические проявления ВОИ могут варьировать от аномалий целых органов иммуногенеза, таких как гипоплазия тимуса при синдроме ДиДжорджи, до нарушений отдельных субпопуляций иммунокомпетентных клеток, например, отсутствия В-лимфоцитов при агаммаглобулинемии. При этом наиболее часто выявляются так называемые «тонкие» нарушения, касающиеся экспрессии рецепторов или белков, обеспечивающих передачу сигнала в клетку. Несмотря на кажущуюся незначительность таких дефектов, они могут приводить к тяжелым клиническим последствиям, как это наблюдается при отсутствии гамма-цепи рецептора интерлейкина 2 у пациентов с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью [2].

В настоящее время наследственные и врожденные заболевания остаются одной из ведущих причин детской смертности и инвалидизации, отражая не только уровень развития здравоохранения, но и влияя на демографические показатели будущего поколения. В условиях современной медицины особое значение приобретает не столько общий показатель рождаемости, сколько качество новорожденных в аспекте их генетического и физического здоровья, а также потенциал достижения ими репродуктивного возраста. В связи с этим задача профилактики рождения детей с врожденными и наследственными патологиями приобретает не только медицинский, но и важнейший социально-экономический приоритет.

Сегодня более 50 стран мира внедрили программы неонатального скрининга, охватывающие около 50 наследственных заболеваний. Среди них особое внимание уделяется тяжелой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН) — группе наследственных синдромов, возникающих вследствие молекулярных дефектов, нарушающих ключевые механизмы иммунного ответа, включая процессы пролиферации, дифференцировки и функционирования иммунокомпетентных клеток. Клинически данные нарушения проявляются резким снижением или полным отсутствием Т-лимфоцитов, ослаблением функции В-клеток, а также нередко — дефектами активности натуральных киллеров. Тимус у таких пациентов сохраняет эмбрионоподобную структуру с наличием эндодермальных стромальных клеток и практически полным отсутствием лимфоидных предшественников, что приводит к тяжелым инфекциям и высокой летальности в первые два года жизни [3].

Как и в случае с другими редкими наследственными патологиями, ключевой проблемой при ТКИН остаётся поздняя диагностика, приводящая к

запоздалой и неадекватной терапии. В последние годы отмечается активное внедрение программ скрининга новорождённых с использованием молекулярно-генетических методов, направленных на выявление ТКИН и других форм первичных иммунодефицитов в рамках национальных программ здравоохранения, что способствует своевременной постановке диагноза и улучшению прогноза у таких пациентов. Существенный прогресс в области ДНК-технологий коренным образом изменил подходы к неонатальному скринингу, позволив включить в панели тестирования широкий спектр наследственных заболеваний (American College). Так, Chan и Puck предложили использование определения T-cell receptor excision circles (TREC) как высокоспецифичного метода популяционного скрининга тяжёлой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН) и Т-клеточных лимфопений [7]. В процессе дифференцировки Т-клеток гены Т-клеточного рецептора подвергаются перестройке, а отсечённые фрагменты образуют кольцевые структуры, не участвующие в дальнейшем геномном соединении и репликации. Наличие TREC служит надёжным маркером недавно образованных наивных Т-клеток. Количественная оценка числа TREC копий в образцах ДНК, полученных из сухих пятен крови, осуществляется с помощью метода количественной ПЦР в режиме реального времени. В 2010 году этот метод был рекомендован для внедрения в программы неонатального скрининга, а к 2014 году скрининг с использованием TREC был внедрён в 38 штатах США, охватив более трёх миллионов новорождённых [8]. Положительные результаты такого скрининга позволяют проводить раннюю диагностику и терапию, что существенно увеличивает показатели выживаемости пациентов до 92%, при условии начала лечения в максимально ранние сроки.

Аналогично, для выявления врождённой В-клеточной лимфопении используется метод оценки количества каппа-дефицитных рекомбинационных эксцизионных кругов (KREC), образующихся в процессе перестройки гена лёгкой цепи каппа в В-лимфоцитах, что открывает новые возможности для расширенного скрининга иммунодефицитных состояний у новорождённых [9].

Интеграция маркеров TREC и KREC в рамках мультиплексной ПЦР показала высокую эффективность и определённые преимущества по сравнению с их изолированным использованием.

В 2023 году в Казахстане был создан отечественный диагностический набор реагентов «TKLymphoCounter», предназначенный для одновременного количественного определения TREC и KREC, что позволяет оценивать функциональное состояние иммунной системы как у новорождённых, так и у пациентов старших возрастных групп. Несмотря на разработку этого метода, в настоящее время национальная программа неонатального скрининга в Казахстане не предусматривает тестирования новорождённых на тяжёлый комбинированный иммунодефицит (ТКИН) и агаммаглобулинемию с применением анализа TREC и KREC.

Внедрение подобных программ сопряжено с необходимостью значительных экономических и организационных ресурсов, однако на уровне

системы здравоохранения такие вложения оправданы, поскольку они позволят сократить младенческую смертность, снизить уровень детской инвалидности и обеспечить своевременное начало терапии, что, в свою очередь, повысит качество и продолжительность жизни пациентов. Отсутствие ранней диагностики остаётся ведущей причиной летальных исходов при ТКИН в первый год жизни, когда дети погибают от тяжёлых вирусно-бактериальных инфекций, развивающихся на фоне отсутствия адекватной иммунной защиты. Осознание этой актуальной проблемы стало основанием и мотивацией для проведения настоящего исследования.

Цель исследования: Оценить диагностическую и прогностическую значимость скрининга количественного определения Т-клеточного (TREC) и В-клеточного (KREC) рецепторов лимфоцитов в сухих пятнах крови новорожденных детей из группы риска для раннего выявления дефектов функционирования иммунной системы.

Задачи исследования:

1. Провести скрининг новорожденных детей из группы риска методом количественного определения кольцевых участков дезоксирибонуклеиновой кислоты Т-клеточного (TREC) и В-клеточного (KREC) рецепторов лимфоцитов в цельной периферической крови, используя в качестве исследуемого материала фильтровальные карты Гарты.

2. Оценить взаимосвязь уровней TREC и KREC с физиологическими и клинично-anamnestическими параметрами новорождённых.

3. Провести сравнительный анализ значений количественных показателей кольцевых участков дезоксирибонуклеиновой кислоты Т - клеточного (TREC) и В-клеточного (KREC) рецепторов лимфоцитов в сухих пятнах крови, взятых в ранний неонатальный период у новорожденных из группы риска.

Научная новизна результатов исследования:

1. Впервые проведен скрининг новорожденных на первичное иммунодефицитное состояние в Республике Казахстан.

2. Модифицирован способ экстракции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из сухих пятен крови новорожденных для определения TREC и KREC методом количественной полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием отечественной тест-системы;

3. Определены нормативные значения количества копий TREC и KREC в сухих пятнах крови у новорожденных из группы риска

Практическая значимость

1. Модифицированная методика количественного определения TREC и KREC в сухих пятнах крови, взятой для рутинного неонатального скрининга,

позволяет использовать отечественный набор для ранней диагностики ТКИН и других форм первичных иммунодефицитов у новорожденных.

2. Генетическое тестирование на ТКИН и другие варианты ВОИ методом определения TREC и KREC у новорожденных в первые дни жизни способствует повышению эффективности начального этапа дифференциальной диагностики инфекционных процессов у детей в критическом состоянии.

3. Своевременная молекулярно-генетическая верификация диагноза позволяет ускорить планирование и реализацию радикальных методов терапии, тем самым увеличивая вероятность излечения пациентов с ТКИН.

4. Результаты данной работы будет основанием для внедрения анализа количества TREC и KREC в систему неонатального скрининга Казахстана, а также в клиническую практику врачей-педиатров.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Метод количественного определения TREC и KREC в сухих пятнах крови новорождённых является эффективным и доступным способом первичного скрининга врождённых ошибок иммунитета.

2. У новорождённых из группы риска (недоношенные, с низкой массой тела, с перинатальной патологией) чаще выявляются сниженные уровни TREC и KREC, что указывает на незрелость иммунной системы и повышенный риск развития первичных иммунодефицитов.

3. Результаты исследования обосновывают необходимость включения анализа TREC/KREC в национальную систему неонатального скрининга для ранней диагностики и профилактики тяжёлых иммунодефицитных состояний.

Публикации по теме диссертации: По теме диссертации опубликовано 1 статья в республиканском научном журнале «OZEKTY GYLYM» №6 журнал, 10.03.2025г.

Вклад автора в проведение исследования: Во время исследования автор принимал участие в определении тематики диссертационной работы, формировании ее методологической структуры, формулировке цели и задач, статистической обработке полученных результатов. Автор самостоятельно проводил забор материала для проведения анализа на TREC и KREC, выделение ДНК из пятен крови на сухих тест бланках и осуществлял наблюдение в динамике в течение года за пациентами.

Апробация материалов диссертации. Основные положения работы изложены:

– на заседании кафедры детских болезней с курсами аллергологии, иммунологии, гематологии и эндокринологии, НАО «Медицинский университет Астана»;

– на научно-практической конференции с международным участием «Современные подходы совершенствования медицинской помощи детям» (Астана, 2025);

- на международной научно-практической конференции «Педиатрические горизонты-2025» (Астана, 2025)

Структура и объём работы. Диссертационная работа изложена на 67 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, разделы, описывающей материалы и методы исследования, 4 разделов, содержащих результаты собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованных источников, включающей 143 источника, в том числе на русском языке 22 и 111 иностранных. Текст иллюстрирован 6 таблицами, 22 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные подходы к анализу проблемы врождённых ошибок иммунитета

Одной из наиболее остро стоящих проблем современной медицины остаётся прогрессирующий рост числа иммунозависимых заболеваний, основой патогенеза которых являются иммунопатологические механизмы [7,8,9]. Несмотря на наблюдающееся увеличение заболеваемости врождёнными ошибками иммунитета (ВОИ), до сих пор остаётся неясным, отражает ли это реальное повышение частоты их возникновения или является следствием совершенствования диагностических подходов и методов идентификации данных состояний.

По результатам актуальных исследований, ВОИ рассматриваются как патологии, обусловленные мутациями в генах, отвечающих за ключевые процессы иммунного ответа, включая активацию, пролиферацию, дифференцировку и функционирование иммунокомпетентных клеток. Эти состояния предрасполагают к развитию тяжёлых рецидивирующих инфекций, аутоиммунных расстройств, а также значительно повышают риск онкологических заболеваний. Современное определение ВОИ было предложено Международным союзом иммунологических обществ (International Union of Immunological Societies — IUIS) в 2011 году [7].

ВОИ представляют собой гетерогенную группу наследственных дефектов, затрагивающих различные компоненты иммунной системы, включая гуморальное и клеточное звено, систему комплемента и фагоцитоза [8,9]. Общим клиническим признаком всех форм ВОИ является склонность к развитию хронических и рецидивирующих инфекций, преимущественно вызываемых низковирулентными, условно-патогенными и оппортунистическими микроорганизмами. Помимо инфекционных осложнений, у таких пациентов нередко наблюдаются аномалии в развитии других органов и систем, что позволяет предположить диагноз до проведения специализированного иммунологического тестирования [10].

Исторически изучение ВОИ началось в середине XX века с публикации американского педиатра О. Брутона, описавшего случай мальчика с агаммаглобулинемией, который был опубликован в 1952 году в журнале «Педиатрия» [11–15]. С тех пор исследования в этой области значительно продвинулись благодаря активной работе учёных и клиницистов-иммунологов [16,17].

На сегодняшний день установлено, что распространённость ВОИ существенно выше, чем предполагалось ранее, и по данным эпидемиологических исследований, в среднем составляет 1 случай на 10 000 населения [18–21]. В странах Европы показатель выявления ВОИ остаётся значительно выше, чем в Казахстане, что обусловлено в первую очередь низким уровнем диагностики и регистрационного учёта. В большинстве

случаев пациенты долгое время остаются без установления диагноза или обращаются за специализированной помощью на поздних стадиях заболевания, когда развиваются тяжёлые инфекционные, онкологические или аутоиммунные осложнения [22,23].

Отсутствие современных алгоритмов диагностики, а также использование устаревших лабораторных методов, приводит к задержке постановки диагноза и, как следствие, к неэффективной и дорогостоящей неспецифической терапии. Тем не менее, современные достижения в области молекулярной медицины позволяют значительно улучшить выявление тяжёлых форм ВОИ и обеспечить пациентам доступ к специализированной иммунотерапии. Важно подчеркнуть, что верификация диагноза первичного иммунодефицита возможна только при комплексной оценке клинических данных, иммунологических показателей и результатов молекулярно-генетического тестирования [24–26].

Современные исследования показывают, что Врожденные ошибки иммунитета более распространенная группа нозологий, чем предполагалось ранее [27]. Был сделан вывод, что 1-2% населения во всем мире могут быть с ВОИ [28]. За последнее десятилетие улучшения в области молекулярной и генетической диагностики привело к более глубокому исследованию иммунной системы, а также своевременному началу лечения, следовательно, к улучшению качества жизни людей, живущих с ВОИ [29,30].

По оценкам Bousifha и соавт., в настоящее время по всему миру может жить до шести миллионов человек с ВОИ [31], порядка 6,3 млн. детей в возрасте до пяти лет умерли в 2013 году, вследствие преждевременных осложненных родов, пневмонии, родовой асфиксии, диареи и малярии, истиной причиной которых могли быть ВОИ не диагностированные до смерти [32,33].

С середины XX века, когда впервые были зафиксированы клинические случаи пациентов с врождёнными нарушениями иммунного ответа, под эгидой Всемирной организации здравоохранения в ряде стран, включая США, Францию, Германию, Италию, Испанию, Кувейт, Россию и Беларусь, началось формирование специализированных исследовательских групп, ориентированных на изучение данной группы заболеваний [34,35]. Эти научные объединения и клинические подразделения внесли значительный вклад в разработку современных классификаций врождённых иммунодефицитов, описание новых клинических форм и создание региональных и национальных регистров пациентов с ВОИ.

Несмотря на существенный прогресс в области иммунологии и рост числа исследований, посвящённых первичным иммунодефицитам, осведомлённость медицинского сообщества по-прежнему остаётся недостаточной [36]. Во многом это обусловлено тем, что ВОИ продолжают восприниматься как редкие и труднодиагностируемые заболевания. Однако данные, представленные Международным Фондом первичных иммунодефицитов (Jeffrey Modell Foundation), указывают на то, что по всему

миру насчитывается не менее 10 миллионов человек, страдающих различными формами ВОИ [37].

Фонд «Jeffrey ModellFondation» (JFM) был основан Викки и Фреддом Моделл в 1987 году, в память об их сыне Джеффри, который умер в возрасте 15 лет от осложнений первичного иммунодефицита [38]. Фонд JeffreyModellFoundation (США)—это некоммерческая организация мирового уровня, занимающаяся вопросами ранней диагностики, лечения, обучения специалистов, поддержкой пациентов с первичными иммунодефицитами, повышения общественной осведомленности и пропаганды. Данные, полученные по первичным иммунодефицитам, запрашиваются ежегодно от врачей экспертов в пределах центров сети –JeffreyModellCentersNetwork (JMCN), состоящей из 602 врачей-специалистов, в 253 научных учреждениях, в 206 городах и 84 странах на всех шести континентах [39].

С 2012 года в нашей стране официально создан регистр пациентов с ВОИ, начал работу центр первичных иммунодефицитов, созданный при поддержке фонда «JeffreyModellFondation» (JFM) [40,41].

Согласно пересмотренной классификации IUIS (2024), ВОИ охватывают свыше 500 нозологических форм и более 500 задействованных генов. Эти состояния ассоциированы с рецидивирующими инфекциями, аутоиммунными осложнениями и онкологическими заболеваниями, проявляясь преимущественно в детском возрасте. При этом мировая практика подтверждает, что уровень диагностики ВОИ напрямую зависит от доступности молекулярно-генетических методов обследования, своевременности скрининга и информированности врачей о данной патологии (IUIS, 2024). [42].

Причины генетических дефектов иммунной системы, передающихся по наследству, практически неизвестны, в качестве мутагенов предполагается действие различных экологических факторов, в том числе и радиоактивное излучение [43].

ВОИ включают в себя множество презентаций, начиная от потенциально доброкачественного дефицита IgA до потенциально катастрофических диагнозов, таких как тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (ТКИН) [44].

Согласно официальной информации Европейского общества по первичным иммунодефицитам, средняя частота встречаемости ВОИ колеблется от 1 случая на 25 000 до 1 случая на 100 000 человек, тогда как селективный дефицит иммуноглобулина А (IgA) выявляется значительно чаще — в среднем у 1 из 500–700 человек [45,46].

Согласно данным статистики, первичные иммунодефицитные заболевания встречаются не так уж и редко, как считалось ранее. По оценкам, показатель распространенности на 100 000 детей варьирует: 3,72 во Франции [47], 4,5 в Оман [48], 4,7 в Катар [49], 10 в Западном мире в целом, и высокий 50-83 в США [50].

Эпидемиологическая оценка распространённости ВОИ представляет значительные сложности, прежде всего вследствие диагностических трудностей. По данным различных исследований, частота выявления ВОИ, требующих медицинского вмешательства, варьирует от 1:20 000 до 1:500 000, что обусловлено как клиническим разнообразием заболевания, так и региональными различиями в доступности и уровне медицинской помощи. Вместе с тем, считается, что уровень диагностики ВОИ остаётся недостаточным, а фактическая распространённость данных состояний существенно превышает зарегистрированные показатели. Кроме того, сведения о заболеваемости и смертности при ВОИ ограничены, что затрудняет полное представление о бремени этих заболеваний.

С целью систематизации и накопления достоверных данных о пациентах с ВОИ в 2004 году Европейским сообществом по иммунодефицитам (European Society for Immunodeficiencies, ESID) был создан онлайн-регистр пациентов. Данный реестр обеспечивает сбор информации о диагностике, лечебной тактике, лабораторных параметрах и клинических исходах у более чем 210 тысяч пациентов с подтверждёнными формами ВОИ. Первый аналитический отчёт на основе данных регистра был опубликован в 2007 году, с последующим выпуском двух обновлённых версий. [51].

База данных теперь содержит более 18000 записей пациентов из 102 центров в 30 странах мира и является мощным инструментом для исследования ВОИ по всей Европе [52].

Клиническая манифестация врождённых (первичных) иммунодефицитов (ВОИ) преимущественно наблюдается в детском возрасте. Однако в случае наличия гипоморфных мутаций типичная симптоматика может проявляться значительно позже, вплоть до подросткового или взрослого периода жизни [53,54]. Значительный временной интервал между первым обращением пациента за медицинской помощью (чаще к педиатру или врачу общей практики) и установлением диагноза ВОИ остаётся актуальной проблемой, составляя от 9 месяцев до 4–7 лет [55,56].

Клиническая картина ВОИ отличается высокой полиморфностью и может мимикрировать под широкий спектр патологий, включая инфекционные, аллергические, аутоиммунные и онкологические заболевания [57,58]. Это значительно затрудняет своевременное выявление иммунодефицитного состояния.

При анализе данных о распространённости ВОИ в Республике Казахстан с учётом показателей, установленных в странах Европы, можно предположить, что реальное число пациентов с врождёнными дефектами иммунной системы в стране должно составлять не менее 3000 человек. Однако, согласно официальным данным, в 2015 году в Казахстане было зарегистрировано всего 34 случая ВОИ, а к 2018 году их количество увеличилось лишь до 80 [61]. Такая значительная разница в показателях выявляемости ВОИ между Европой и Казахстаном в значительной степени объясняется выраженной гиподиагностикой, отсутствием эффективной системы учёта пациентов до 2012

года, а также отсутствием широкодоступной генетической диагностики, что ограничивает раннее выявление и верификацию подобных патологий.

1.2 Клинико-иммунологическая характеристика ключевых нозологических форм врожденных ошибок иммунитета

Один из последних конгрессов Международного Союза Иммунологических сообществ (IUIS), посвящённый вопросам первичных иммунодефицитов, проходил в Лондоне 14–15 марта 2015 года. Основной задачей данного мероприятия являлось пересмотр и актуализация существующей классификации первичных иммунодефицитов. В новой редакции классификации принципиальным отличием стало закрепление каждого отдельного дефекта за одной конкретной категорией с учётом клинико-фенотипических особенностей, что способствует упрощению процессов клинической диагностики и сравнительных исследований на международном уровне [62,63].

Отличительная особенность новой классификации врождённых ошибок иммунитета заключается в использовании логически выстроенного древовидного алгоритма принятия решений, основанного на детальном анализе клинических и биологических фенотипов. Следует подчеркнуть, что представленная фенотипическая классификация получила широкое признание в научном сообществе, о чём свидетельствует её высокий рейтинг по цитируемости — 96-й перцентиль среди публикаций издательства Springer [64,65].

Экспертный комитет, разработавший указанную классификацию, стремился не только создать удобный инструмент для практикующих специалистов в диагностике ВОИ, но и инициировать укрепление сотрудничества между национальными и международными исследовательскими центрами [66,67]. При этом экспертная группа подчёркивает необходимость дальнейшей разработки и совершенствования альтернативных подходов к классификации врождённых ошибок иммунитета [68,69].

Согласно современным представлениям, основанным на изучении патогенетических механизмов формирования данных состояний, врождённые ошибки иммунитета принято подразделять на четыре ключевые группы [70]:

- иммунодефициты, затрагивающие гуморальное звено (В-клеточные дефекты);
- комбинированные иммунодефициты, характеризующиеся поражением как клеточного, так и гуморального компонентов иммунной системы;
- нарушения фагоцитарной функции;
- дефициты комплемента.

Как указывают Kolhir P.V. и Al-Herz W., патологии, сопровождающиеся нарушением продукции антител, составляют около 50% от общего числа зарегистрированных случаев ВОИ, занимая лидирующее положение по частоте встречаемости. Комбинированные иммунодефициты представлены в структуре

ВОИ в 30% случаев, дефекты фагоцитоза — в 18%, а дефициты комплемента диагностируются значительно реже и составляют менее 1–2% всех случаев ВОИ [71].

1.2.1 Дефекты антителообразования

В спектре нарушений продукции антител выделяют три ключевые группы. Первая из них включает агаммаглобулинемию, ассоциированную с дефицитом В-лимфоцитов. К данной категории относятся сцепленная с X-хромосомой агаммаглобулинемия Брутона (X-linked Agammaglobulinemia, XLA) и аутосомно-рецессивная агаммаглобулинемия (Autosomal Recessive Agammaglobulinemia, ARA). Эти состояния представляют собой врождённые иммунодефицитные заболевания, характеризующиеся значительным снижением всех классов сывороточных иммуноглобулинов, а также уменьшением количества циркулирующих В-клеток [72,73,74]. У пациентов с XLA дефект продукции антител обусловлен мутацией гена *Brutontyrosinekinase*, который располагается на X-хромосоме [75,76]. В то время как при ARA мутации шести различных генов приводят к блокировке процесса дифференцировки на этапе перехода от про-В-клеток к пре-В-клеткам [77,78]. Перечисленные гены кодируют как компоненты пре-В-клеточного рецептора, так и молекулы, участвующие в передаче сигнала от этого рецептора.

Независимо от типа наследования, данные дефекты антителопродукции приводят к высокой восприимчивости к инфекционным агентам, в первую очередь к бактериальным инфекциям, возбудителями которых выступают *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. При этом у новорождённых детей в возрасте до 9–12 месяцев сохраняется пассивная защита благодаря циркулирующим материнским IgG [79,80].

Общая варибельная иммунная недостаточность (ОВИН) представляет собой группу заболеваний, при которых нарушается продукция иммуноглобулинов и защитных антител, проявляющаяся повторяющимися бактериальными инфекциями. Современные иммунологические исследования выявили, что патогенез ОВИН преимущественно обусловлен дефектами пост-антигенной дифференцировки В-лимфоцитов, затрудняющими формирование плазмбластов. В настоящее время описаны четыре основных генетических дефекта, связанных с ОВИН: дефицит ICOS (Inducible Co-Stimulator of T cells, хромосома 2q33, аутосомно-рецессивный тип), нарушение дифференцировки В-клеток (хромосома 16p11.2, аутосомно-рецессивный тип), дефицит TACI (Transmembrane Activator and Calcium Modulator and Cyclophilin Ligand Interactor, хромосома 17p11.2, аутосомно-рецессивный тип), а также дефицит BAFF-R (B-cell Activation Factor of the TNF Family Receptor, хромосома 22q13.1-3.3, аутосомно-рецессивный тип). Эти аномалии выявляются примерно у 10–15% пациентов с ОВИН, тогда как у большинства больных молекулярно-генетическая природа заболевания остаётся неустановленной [81,82].

У пациентов с ОВИН, независимо от возраста манифестации, характерно значительное снижение или полное отсутствие популяции В-лимфоцитов памяти в периферической крови с различными фенотипами (CD19+CD27+IgD-, CD19+CD27+IgD+, CD19+CD27+IgM-, CD19+CD27+IgM+), что является важным лабораторным критерием при постановке диагноза в сочетании с клиническими данными. Заболевание характеризуется двумя пиками манифестации: первый приходится на детский возраст (5–10 лет), второй — на зрелый возраст (20–30 лет) [83].

К наиболее частым клиническим проявлениям относятся инфекции респираторного тракта, такие как средний отит, синусит, бронхит и рецидивирующие пневмонии. Кроме того, нередко встречаются гастроинтестинальные нарушения, в том числе гранулематозные воспаления, аутоиммунные заболевания, лимфопролиферативные процессы и злокачественные новообразования [84].

Среди ВОИ дефекты иммуноглобулинов занимают доминирующее положение, составляя более 60% всех случаев. Наиболее часто регистрируются дефицит IgA и ОВИН, которые могут проявляться в любом возрасте, включая ранний детский период, хотя наиболее часто их диагностируют у молодых и пожилых пациентов [85]. Без своевременной диагностики и адекватной заместительной терапии иммуноглобулинами рецидивирующие синопульмональные инфекции могут хронифицироваться, приводя к необратимым повреждениям органов и развитию тяжёлых осложнений [86].

1.2.2 Комбинированные иммунодефициты с поражением Т- и В-клеточного звена: особенности тяжёлой комбинированной иммунной недостаточности.

Группа комбинированных иммунодефицитов, куда входит и тяжёлая комбинированная иммунная недостаточность (ТКИН), объединяет редкие наследственные патологии, характеризующиеся выраженным нарушением функционирования Т-клеточного звена иммунной системы, которое нередко сопровождается дефектами гуморального иммунитета. В настоящее время идентифицированы мутации в 39 различных генах, приводящие к развитию этих состояний, которые классифицируются по иммунологическим и генетическим критериям [87].

На сегодняшний день установлено более 18 моногенных мутаций, ассоциированных с развитием ТКИН [88,89]. Данные генетические аномалии затрагивают ключевые сигнальные пути, в том числе каскады, зависящие от общей γ -цепи интерлейкинов, а также нарушают процессы репарации ДНК, жизненно важные для V(D)J рекомбинации, обеспечивающей созревание Т- и В-лимфоцитов [90].

ТКИН относится к числу редких врождённых синдромов, сопровождающихся тяжёлой недостаточностью как клеточного, так и гуморального иммунитета. Современные молекулярно-генетические методы

позволили выявить ряд мутаций, ответственных за развитие этого синдрома. Наиболее распространённой формой является X-сцепленный ТКИН, который регистрируется примерно в 46% случаев и обусловлен мутацией в γ -цепи, общей для рецепторов интерлейкинов IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 и IL-21. Помимо этого, аутосомно-рецессивные формы ТКИН связаны с мутациями в генах, кодирующих аденозиндезаминазу (ADA), Janus kinase 3 (JAK3), α -цепь рецептора IL-7, рекомбинантные активаторы генов 1 и 2, CD45, а также ген Artemis [91,92].

Несмотря на разнородность генетических дефектов, клинические, лабораторные и морфологические признаки ТКИН остаются достаточно сходными. Для данной патологии характерны выраженная лимфопения, гипогаммаглобулинемия и отсутствие пролиферативного ответа лимфоцитов. У таких детей, как правило, отсутствуют миндалины, слабо развиты лимфатические узлы, а тимус мал по размерам и слабо дифференцирован [93-97].

Средний возраст постановки диагноза ТКИН составляет 6,6 месяцев, однако дебют заболевания обычно происходит раньше, в связи со снижением уровня материнских трансплацентарных антител [98]. Согласно результатам программы скрининга новорождённых, проведённой Kwan в 2013 году, реальная частота ТКИН оказалась выше ожидаемой и на текущий момент оценивается как минимум 1 случай на 50 000 новорождённых. В популяциях с высоким уровнем внутрисемейных браков, таких как испаноязычные, эта частота может достигать 2,4 на 50 000 [99-102].

В большинстве случаев новорождённые с тяжёлой формой Т-клеточной лимфопении, включая ТКИН, при рождении выглядят клинически здоровыми и не имеют отягощённого семейного анамнеза по иммунодефицитным заболеваниям [103]. Как следствие, диагностирование иммунодефицита у таких пациентов часто происходит уже на стадии тяжёлых инфекционных осложнений, представляющих угрозу жизни [104-107].

Согласно приказу Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 13 июня 2018 года №361, детям с установленным диагнозом ТКИН противопоказано введение живых вакцин. При отсутствии своевременной диагностики и назначения адекватной терапии, включая трансплантацию костного мозга (ТКМ), ферментозаместительную или геннотерапию, прогноз у младенцев с ТКИН остаётся крайне неблагоприятным, и летальность в первый год жизни достигает почти 100% из-за тяжёлых генерализованных инфекций [108].

1.3 Применение и значение скрининга TREC и KREC в мировой практике

Установление диагноза «врождённая ошибка иммунитета» (ВОИ) требует интегрированного подхода, сочетающего клиническую оценку с результатами иммунологических и генетических исследований. С целью

повышения клинической настороженности у врачей и информированности пациентов, фонд Jeffrey Modell Foundation разработал перечень из 12 клинических признаков, позволяющих заподозрить наличие ВОИ, среди которых: семейная отягощённость по инфекционным заболеваниям с летальным исходом в раннем возрасте; частые эпизоды отитов и синуситов; повторяющиеся случаи пневмоний; неэффективное длительное лечение антибиотиками; неблагоприятные реакции на вакцинацию; отставание в росте и развитии; рецидивирующие абсцессы; тяжёлые инфекции, такие как менингит или сепсис; хронический кандидоз кожи и слизистых; нарушения пищеварения; а также рецидивирующие инфекции, вызванные атипичными микобактериями [109].

Несмотря на то что указанные критерии обладают ограниченной специфичностью, они служат эффективным инструментом предварительного выявления группы риска среди новорождённых и детей младшего возраста [110].

С внедрением молекулярно-генетических технологий диагностика ВОИ претерпела качественные изменения, позволившие перейти от клинического к доклиническому этапу выявления иммунодефицитных состояний [1,2]. В современном неонатальном скрининге применяются три основных метода для диагностики тяжёлой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН): подсчёт лимфоцитов, количественная ПЦР для определения TREC, а также определение уровня интерлейкина-7 с помощью иммуноферментного анализа [111].

За последние годы методика количественного определения TREC приобрела особое значение в практике массового скрининга новорождённых, что позволило значительно повысить выявляемость ТКИН и других ВОИ ещё до появления клинических симптомов [112]. Первыми страной, внедрившей массовый скрининг TREC, стали США, где к 2018 году охват достиг почти 100% новорождённых [123]. При этом показатели выживаемости детей с ТКИН, диагностированных по результатам такого скрининга, увеличились до 94–95%, что подтверждает высокую клинико-экономическую эффективность программы [124].

В 2014 году был опубликован отчёт о реализации скрининга TREC в 11 штатах США, который подтвердил целесообразность данного метода как инструмента популяционного мониторинга частоты ТКИН, оценённой в 1:58 000, что превышает ранее предполагаемую распространённость 1:100 000 [125,126].

Программы скрининга по определению TREC/KREC активно развиваются в ряде стран Европы (Швеция, Норвегия, Швейцария, Италия, Франция) и Израиле, где, например, Rechavi и соавт. (2017) выявили 13 случаев ТКИН на 290 864 обследованных новорождённых (1:22 000) [137]. Подобные инициативы успешно реализуются в странах Азии, Южной Америки и Австралии, при этом в разных регионах отмечается вариабельность частоты

ТКИН, что отражает как генетические особенности популяций, так и различия в реализации скрининговых программ [138,139].

Внедрение комбинированного анализа TREC и KREC позволило значительно повысить точность диагностики, обеспечивая одновременную оценку зрелости Т- и В-клеточных звеньев иммунной системы и снижая риск диагностических ошибок [140]. Применение KREC открыло новые перспективы для диагностики агаммаглобулинемии и иных В-клеточных дефицитов, расширяя спектр диагностических возможностей неонатального скрининга [141].

Пилотные программы по включению TREC/KREC в расширенные скрининговые панели уже реализуются в Швейцарии (Trück et al., 2020), Японии, Польше, Украине и ряде других стран [133-137]. Впервые потенциал TREC был описан в 1998 году Douek и соавт. как маркера недавних эмигрантов из тимуса (RTE), что стало основой для его использования в качестве скринингового инструмента [114]

Как известно, созревание Т-лимфоцитов и перестройка генов, кодирующих полипептидные цепи Т-клеточного рецептора (TCR), происходит в тимусе. В процессе перестройки генов Т-клеточного рецептора в тимоцитах происходит соединение пространственно разделенных генетических сегментов, причем, генетический материал, находящийся между ними, вырезается и замыкается в кольцо [115]. Образовавшаяся последовательность кольцевой ДНК, именуемая TREC, присутствует в наивных Т-лимфоцитах периферической крови. По определению, TREC образуется в результате V(D)J-реарранжировки, вырезки части генетического материала и замыкания в кольцо. Максимальное содержание TREC свойственно недавним эмигрантам из тимуса – Т-клеткам, не успевшие поделиться после выхода из клетки [116].

В процессе деления Т-клеток так называемые кольца TREC не делятся, они служат своеобразным маркером реарранжировки генов TCR, а их содержание на уровне популяции Т-клеток служит мерой содержания недавних эмигрантов из тимуса (RTE) [117].

Аналогичным образом KREC, образующийся при созревании В-клеток в костном мозге, является индикатором В-клеточного иммунного ответа на ранних этапах онтогенеза [118]. Количественная ПЦР позволяет точно определить уровни TREC и KREC, что делает данные маркеры высокоинформативными и удобными для интеграции в программы массового скрининга новорождённых [119-122]. Множественные исследования подтвердили, что определение TREC и KREC является не только эффективным методом диагностики ВОИ, но и инструментом мониторинга восстановления Т-клеточной функции после трансплантации костного мозга [123,124].

По мнению Morinishi и соавт. (2023), методика TREC обладает важными преимуществами: использование сухих пятен крови, высокая чувствительность, высокая пропускная способность и относительная дешевизна [127]. С учётом высокой стоимости лечения одного ребёнка с ТКИН, которая может превышать затраты на проведение скрининга всего населения региона, экономическая

эффективность внедрения TREC в государственные программы здравоохранения очевидна [128,129]. Данный подход обеспечивает раннее выявление иммунодефицита, своевременную трансплантацию и, как следствие, значительное снижение заболеваемости и смертности [130,131].

Таким образом, мировой опыт демонстрирует, что применение молекулярного скрининга на основе TREC и KREC является не только высокоэффективным инструментом ранней диагностики ВОИ, но и способствует созданию национальных регистров, повышению осведомлённости медицинского сообщества и улучшению клинических исходов у пациентов с первичными иммунодефицитами.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн и база исследования

Исследование выполнено в дизайне одномоментного поперечного (cross-sectional) исследования и проводилось в три этапа в период с 01 сентября 2023г по 20 марта 2025г. Исследование организовано на базе следующих учреждений:

- Городская детская больница №1 города Астаны;
- Национальный центр биотехнологии.

2.2 Этапы проведения

Первый этап включал:

- Сбор анамнестических данных;
- Анкетирование родителей (законных представителей);
- Молекулярно-генетическое тестирование, включающее количественную оценку кольцевых структур TREC и KREC в лимфоцитах.

Второй этап предусматривал:

- Количественное определение молекул TREC и KREC в сухих пятнах крови у новорожденных детей;

Третий этап включал:

- Сравнительный анализ полученных данных с нормативными референсными значениями;
- Обобщение результатов и статистическую обработку данных.

2.3 Характеристика выборки

В исследование были включены 627 новорожденных детей, находящихся на лечении в Городской детской больнице №1 города Астаны в период с 01 сентября 2023г по 20 марта 2025г. Контрольная группа включала 50 условно здоровых новорожденных детей, которые прошли профилактическое обследование. Контрольные данные по TREC и KREC использовались для сравнительного анализа с данными основной группы пациентов.

Все участники исследования были отобраны на основе добровольного участия, при этом для каждого пациента было получено информированное согласие от родителей или законных представителей.

2.4 Этические аспекты

Все этапы исследования проводились в соответствии с этическими нормами и стандартами, установленными в международной практике. Участие в исследовании было строго добровольным, и все участники дали своё согласие на участие в исследовании посредством подписания информированного согласия. Родители или законные представители новорожденных детей были ознакомлены с целью исследования, методами и возможными рисками, а также с правом на отказ от участия в любой момент без последствий для медицинского обслуживания.

Форма информированного согласия была предварительно одобрена Локальным этическим комитетом, что соответствовало требованиям законодательства и обеспечивало соблюдение прав участников исследования.

Конфиденциальность и анонимность персональных данных пациентов были обеспечены в полном объеме.

Методы исследования и объем выполненной работы представлены в таблице 1. Дизайн исследований представлен в соответствии с рисунком 1.



Рисунок 1 - Дизайн исследования

Методы исследования	Количество обследованных пациентов
Анамнестические данные	627
Анкетирование	627
Определение TREC, KREC в сухих пятнах крови	627
Итого	1881

Таблица 1 - Методы исследования и объем выполненной работы

2.5 Анамнестические данные

На первом этапе нашей работы был проведен одномоментный поперечный анализ 627 новорожденных детей, поступившие в стационарное лечение в период с 01 сентября 2023г по 20 марта 2025г. Диагноз был верифицирован на базе ТОО «Национальный центр биотехнологии».

Для проведения научных и клинических исследований от матерей новорожденных детей было получено информированное согласие (Приложение В). Исследование было одобрено локальной этической комиссией НАО «МУА» (Приложение Б).

Критерии включения в исследование:

- дети обоих полов родившиеся с 01.09.2023 по 20.03.2025 года
- недоношенные с низкой и экстремально низкой массой тела
- новорожденные, родившиеся от матерей с отягощенным акушерским анамнезом
- новорожденные с врожденными пороками развития

Критерии исключения из исследования:

- Дети старше 28 дней
- добровольный отказ испытуемых от участия в исследованиях.

2.6 Количественное определения молекул ДНК TREC и KREC в образцах сухих пятен крови

Области применения TREC и KREC:

- неонатальный скрининг на тяжёлый комбинированный иммунодефицит (ТКИН) и агаммаглобулинемию;
- мониторинг эффективности трансплантации костного мозга и генной терапии;
- контроль терапии антиретровирусными препаратами у пациентов с ВИЧ, а также мониторинг химиотерапии у онкологических больных;
- уточнение классификации у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН);

– исследование процессов созревания и пролиферации В-лимфоцитов.

Процедура взятия крови была идентична методике, применяемой при скрининге новорождённых на фенилкетонурию. Образцы крови получали из пятки новорождённых и наносили на специальные бумажные карты (GE Healthcare Bio-Sciences Corp, США). После полного высушивания и хранения карт в течение семи дней, из них вырезали равномерные диски при помощи дырокола Harris UNI-CORE (Qiagen GmbH, Германия). Для последующего выделения ДНК применялся отечественный набор реагентов «TKLymphoCounter», а экстракция осуществлялась согласно инструкции производителя. Количественное определение содержания молекул TREC и KREC выполнялось методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени [132].

Процедура выделения ДНК из «сухих пятен крови»

Для экстракции ДНК из дисков сухих пятен использовали метод фенол-хлороформной экстракции:

1. С помощью ножниц, предварительно обработанных спиртом, вырезали диск из карты Гутье и помещали его в стерильную пробирку объёмом 1,5-2 мл.

2. Добавляли 1 мл лизирующего буфера DB (1 М Tris-HCl, 0,5 М EDTA, 5 М NaCl, 10% SDS) и инкубировали при 37°C в термошейкере при 600 об/мин в течение 18-24 часов.

3. По окончании инкубации осуществляли центрифугирование при 10 000 об/мин в течение 5 минут, затем надосадочную жидкость переносили в новую пробирку, добавляя 700 мкл смеси фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1), интенсивно перемешивая до появления молочно-белой эмульсии.

4. Проводили повторное центрифугирование в течение 5 минут при 10 000 об/мин, после чего супернатант переносили в свежую пробирку.

5. Вносили 800 мкл изопропанола, тщательно вортексировали и центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 20 минут.

6. Удаляли надосадочную жидкость, осадок промывали 1 мл 70% этанола с последующим центрифугированием при 10 000 об/мин в течение 10 минут.

7. После удаления надосадка осадок ДНК высушивали и растворяли в 35 мкл TE-буфера, инкубируя в термошейкере до полного растворения в течение 30 минут.

Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoDrop, контролируя чистоту по соотношению оптической плотности 260/280 (для оценки примесей белков) и 260/230 (для оценки присутствия органических растворителей).

Проведение ПЦР в реальном времени

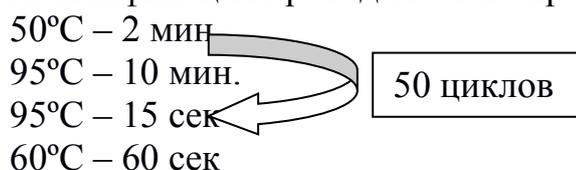
Реакция ПЦР в режиме реального времени осуществлялась на платформе Gene Amp PCR System 9700 (Bio-Rad, 2018, США), при использовании программного обеспечения Real-time CFX Manager Software. Для амплификации применяли набор праймеров, зондов и плазмидных стандартов, входящих в комплект «TKLymphoCounter», предназначенного для детекции TREC, KREC и внутреннего контроля (альбумина — ALB).

Реакционная смесь общим объёмом 25 мкл включала TaqMan Master Mix (Applied BioSystems), стерильную воду и стоковые растворы праймеров (см. таблицу 2). Все реакции выполнялись в дублях для повышения точности и надёжности результатов.

Таблица 2 – Приготовление реакционной смеси

Реагенты	Объём на 1 реакцию (мкл)
TaqMan2хPCRMasterMix	12,5
Сток праймеров	1,25
Вода	6,25
кДНК (в микс не входит)	5

Амплификация проводилась по протоколу:



Резюме и описание процедуры

Молекулы TREC и KREC представляют собой стабильные кольцевидные фрагменты ДНК, которые формируются в процессе перестройки генов рецепторов Т- и В-лимфоцитов соответственно. У здоровых новорождённых данные молекулы продуцируются в количествах, соответствующих возрастной норме, а их концентрация постепенно снижается с возрастом. Напротив, у детей с тяжёлой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН) и агаммаглобулинемией уровни TREC и KREC остаются на уровне, не поддающемся детекции.

Для проведения анализа возможно использование как образцов цельной крови, так и ДНК, выделенной из сухих пятен крови, собранных в рамках национальных программ неонатального скрининга. Количественная оценка копий TREC и KREC в пробе с применением калибраторов позволяет дифференцировать пациентов с Т- и В-клеточными лимфопениями от здоровых новорождённых. Следует учитывать, что сниженные значения TREC и KREC могут быть связаны не только с ТКИН или агаммаглобулинемией, но также наблюдаются при других иммунодефицитных состояниях (например, при синдроме ДиДжорджа), либо могут быть обусловлены применением иммуносупрессивной терапии, а также незрелостью иммунной системы у недоношенных детей. В связи с этим результаты теста требуют подтверждения дополнительными методами в рамках комплексной диагностики.

Принцип метода

Количественное определение числа копий TREC и KREC осуществляется с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Процедура включает экстракцию ДНК из образцов цельной крови или сухих пятен крови на фильтровальной бумаге, последующую амплификацию целевых фрагментов TREC и KREC с одновременной детекцией сигнала. Параллельно в реакции проводится амплификация участка гена альбумина человека (ALB), который служит эндогенным внутренним контролем. Этот контроль необходим для верификации качества экстракции ДНК, подтверждения отсутствия ингибиторов ПЦР, а также для оценки адекватности и количества внесённого биоматериала. Итоговый расчёт числа копий TREC и KREC производится с учётом данных внутреннего контроля.

Проведение исследования

Перед началом анализа компоненты набора реагентов размораживали, перемешивали на вортексе и центрифугировали для осаждения конденсата. Для каждой реакции, включая 4 контроля (3 калибратора и отрицательный контроль), рабочая смесь готовилась в объёме 25 мкл, включая 15 мкл реакционной смеси и 10 мкл пробы ДНК или контролей, которые вносились в отдельные лунки плашки или стрипы с использованием новых наконечников.

Программирование амплификатора выполнялось согласно инструкциям производителя с обязательным внесением значений концентраций калибраторов, указанных в техническом паспорте к набору реагентов.

Интерпретация результатов

Полученные кривые накопления флуоресцентного сигнала оценивали по трём каналам: Fam/Green, JOE/HEX/VIC/Yellow и ROX/Orange (см. таблицу 3).

Таблица 3–Интерпретация результатов

Канал детекции	Fam/Green	JOE/HEX/VIC/Yellow	ROX/Orange
Мишень	TREC	KREC	ALB (эндогенный внутренний контроль)

При определении ДНК альбумина (ALB) менее 5×10^4 копий/мл в образце из сухого пятна крови результат считался невалидным, требуя повторного проведения исследования. Результаты признавались достоверными при получении корректных данных по всем контрольным образцам, включая калибраторы, отрицательный контроль экстракции и отрицательный контроль ПЦР.

Число копий TREC и KREC рассчитывалось на 10^5 ядерных клеток (лейкоцитов) с учётом значений внутреннего контроля IL17RA по формуле (1):

A Количество TREC (KREC) = (кол – во копий TREC (KREC) на мл / кол – во копий ALB) * 200000(1)

В рамках работы были подобраны и синтезированы оптимальные праймеры, зонды и калибраторы для молекул TREC, KREC, а также внутреннего контроля (альбумин), что отражено на рисунках 2, 3, 4 и 5. В дальнейшем проведена оценка чувствительности и специфичности тест-системы, а также её валидация, результаты которой представлены в таблице 4.

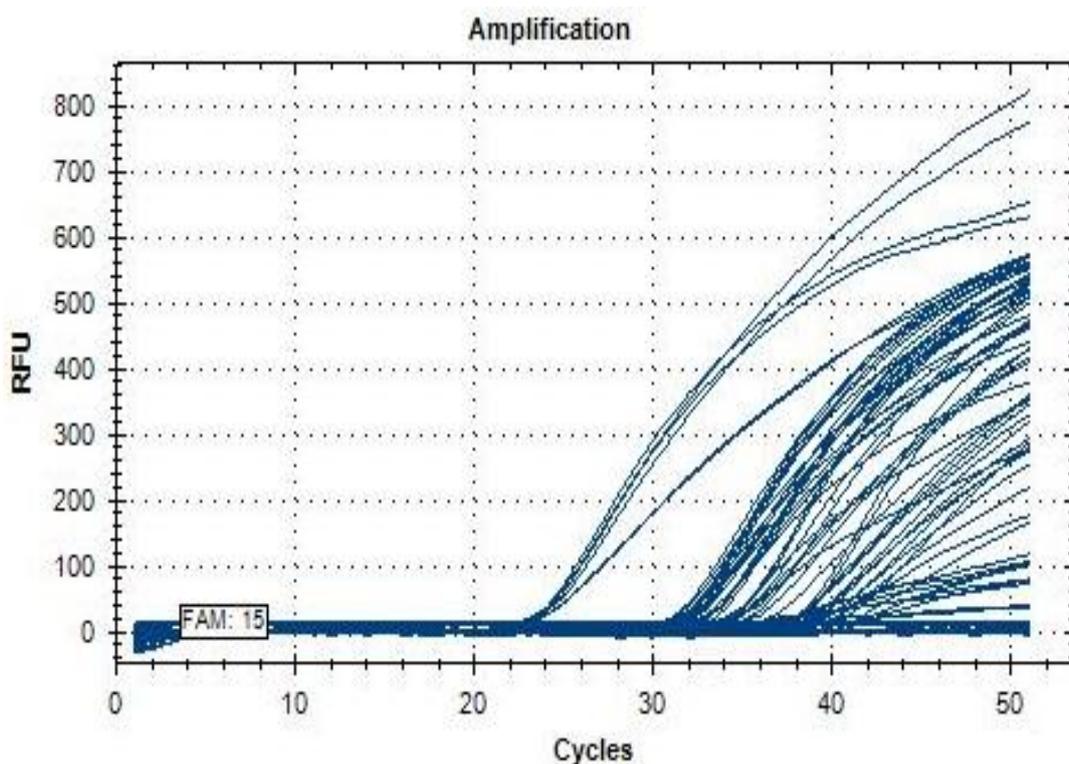


Рисунок 2– Программа амплификации

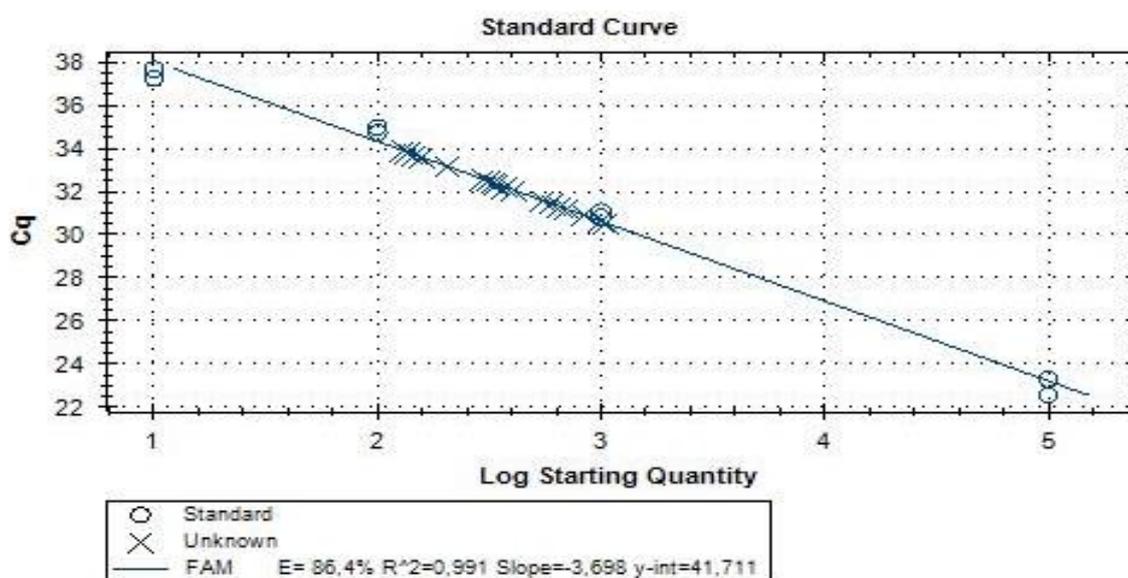


Рисунок 3–КалибровкаALB

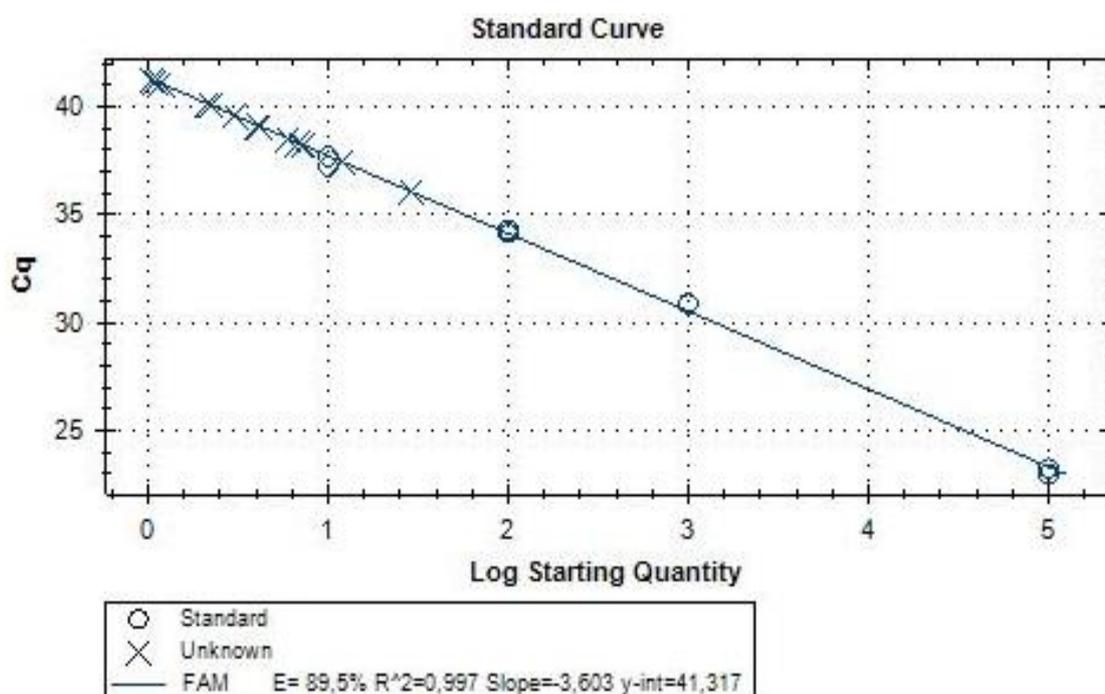


Рисунок 4 –Калибровка KREC

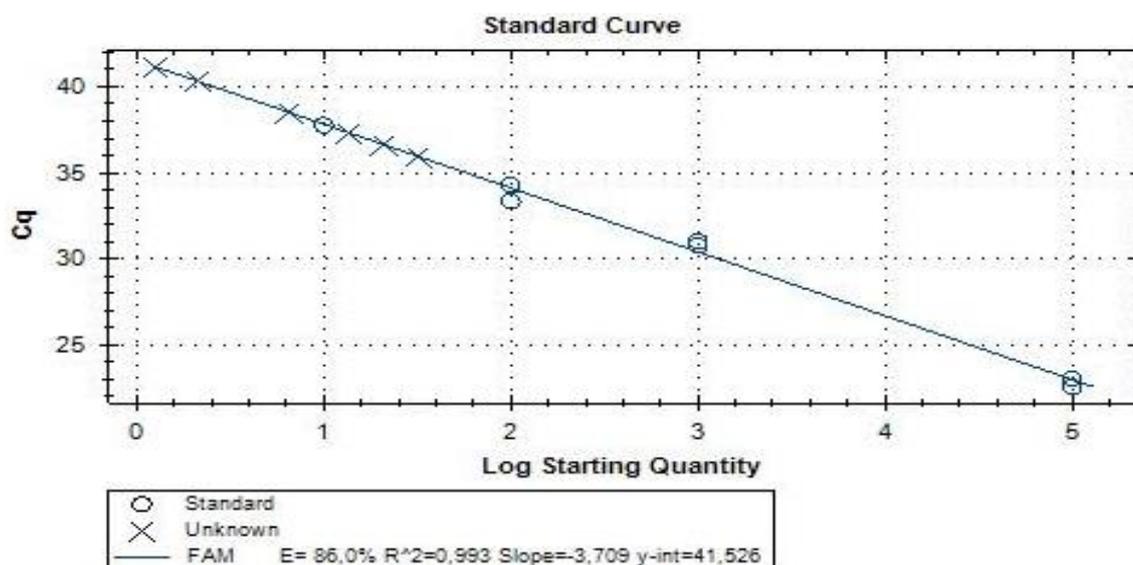


Рисунок 5–Калибровка TREC

Стандарты	ALB	TREC	KREC
G05	5,00E+00	5,00E+00	5,00E+00
H02	1,00E+02	1,00E+02	1,00E+02
A06	1,00E+04	1,00E+04	1,00E+04

Таблица 4– Показатели ALB, TREC, KREC в стандартных наборах

2.7 Анкетирование

В ходе исследования проводилось анкетирование матерей новорожденных специально разработанной анкетой, состоящей из 26 вопросов, на основании признаков первичных иммунодефицитов, разработанных CuringP. I. Worldwide, JeffreyModellFoundation, с изменениями, адаптированными для ОВИН, с целью изучения новорожденных (Приложение А).

2.8 Методы статистической обработки

Статистическая обработка полученных данных производилась на персональном компьютере с использованием пакета статистических программ «MicrosoftOfficeExcel 2010», IBM SPSS Statistics 20.

Для оценки распределения количественных данных применялись следующие подходы: при объёме выборки менее 50 наблюдений использовался критерий Шапиро–Уилка, а при количестве наблюдений более 50 применялся критерий Колмогорова–Смирнова. В случае установления отклонений от нормального распределения, количественные переменные описывались с указанием медианных значений (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3).

Категориальные переменные представлялись в виде абсолютного количества и соответствующих процентных соотношений.

Сравнительный анализ двух независимых групп по количественным показателям, распределение которых не соответствовало нормальному, осуществлялся с применением U-критерия Манна–Уитни. При необходимости сравнения трёх и более групп с аналогичным распределением применялся критерий Краскела–Уоллиса, а последующее апостериорное сопоставление между группами проводилось с использованием критерия Данна, с внесением поправки Холма для множественных сравнений.

Для анализа процентных соотношений в четырёхпольных таблицах сопряжённости применялся критерий хи-квадрат Пирсона, при условии, что ожидаемое значение в ячейках превышало 10. В случаях, когда ожидаемые значения составляли менее 10, использовался точный критерий Фишера.

При работе с многопольными таблицами сопряжённости для оценки статистической значимости различий между процентными долями использовался критерий хи-квадрат Пирсона.

Критический уровень значимости устанавливался на уровне $p < 0,05$. Все различия считались статистически значимыми при p -значении ниже указанного порога.

Результаты анализа представлены в виде таблиц, графиков и диаграмм с указанием уровня значимости, что позволило наглядно продемонстрировать выявленные зависимости и различия между исследуемыми группами.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ НОВОРОЖДЕННЫХ И ИХ МАТЕРЕЙ ИЗ ГРУППЫ РИСКА

Исследование выполнено в дизайне одномоментного поперечного (cross-sectional) исследования и проводилось в три этапа. В исследование были включены 627 новорожденных детей, находящихся на лечении в Городской детской больнице №1 города Астаны в период с 01 сентября 2023г по 20 марта 2025г. Всем пациентам было проведено молекулярно-генетическое тестирование, включающее количественную оценку кольцевых структур TREC и KREC в лимфоцитах.

Для комплексной оценки результатов молекулярно-генетического скрининга методом определения уровней TREC и KREC у новорождённых была проведена предварительная анкетирование, включающее ключевые перинатальные и неонатальные характеристики, потенциально ассоциированные с риском развития врожденных ошибок иммунитета.

3.1. Исследование клинических, анамнестических и антропометрических показателей

При изучении гендерного состава исследуемых новорожденных, было обнаружено, что среди обследованных преобладали мальчики — 344 (54,9%); девочек было 283 (45,1%)($p < 0,05$). Таким образом, доля мальчиков на 9,8% превышает долю девочек (рисунок 6), что сопоставимо с результатами зарубежных исследований.

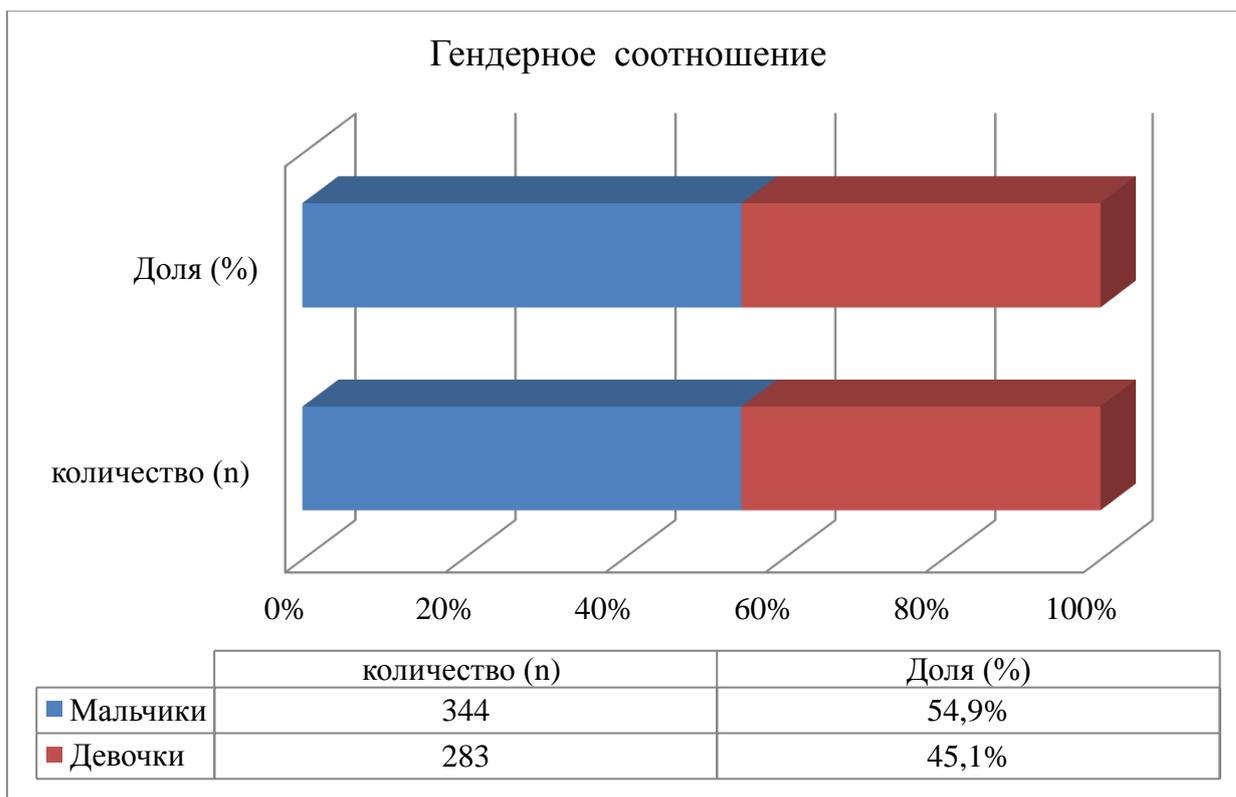


Рисунок 6–Характеристика новорожденных по гендерному составу

В рамках проведенного исследования было обследовано 627 новорождённых. Среди них 16 (2,6%) родились в результате применения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), а 611 (97,4%) – в ходе естественных родов. Применение вспомогательных репродуктивных технологий рассматривается в научной литературе как один из факторов, потенциально влияющих на иммунологическое развитие новорождённых, с акцентом на тимическую продукцию Т-лимфоцитов (рисунок 7).

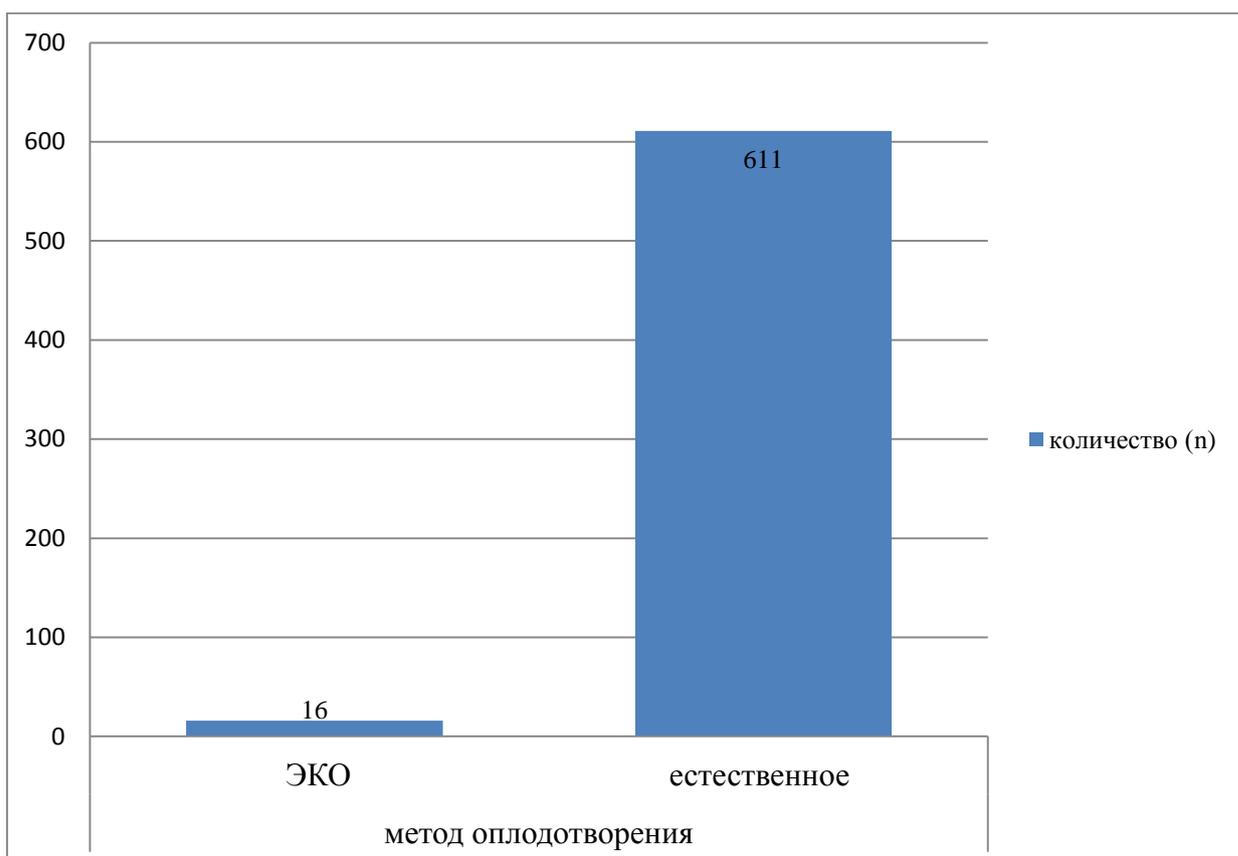


Рисунок 7–Метод оплодотворения

При анализе способы родоразрешения были выявлены, что большинство детей были рождены естественным путём (n=480; 76,6%), кесарево сечение выполнено у 146 новорождённых (23,3%) и один ребёнок (0,2%) был рождён от суррогатной матери(рисунок 8).

Путь родоразрешения может оказывать влияние на формирование микробиома и первичную иммунную адаптацию, что имеет значение при оценке иммунной функции новорождённого.

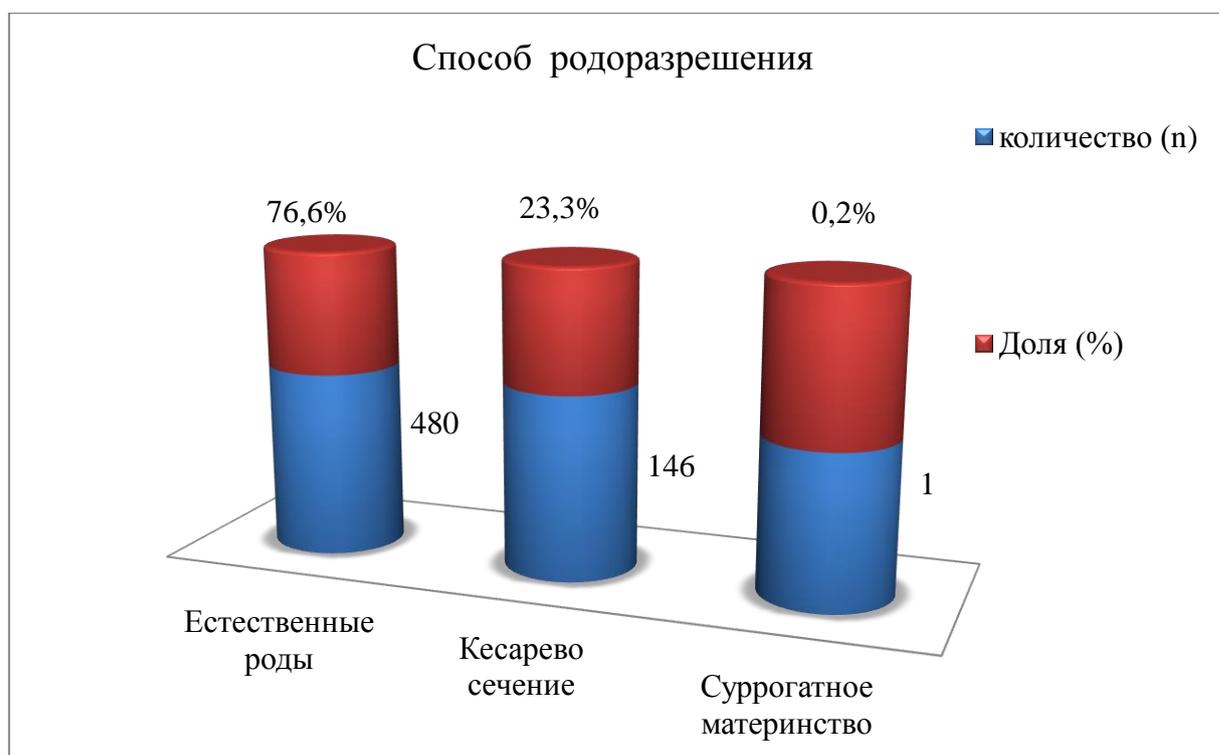


Рисунок 8–Способ родоразрешения

Изучая сроки гестации были получены следующие данные: Большинство детей были доношенными (≥ 38 недель): 38 нед — 140 (22,3%), 39 нед — 185 (29,5%), 40–42 нед — 174 (27,8%). Недоношенными (< 37 недель) родились 110 детей (17,5%), в том числе крайне недоношенные (< 32 недель) — 10 детей (рисунок 9).

Степень зрелости плода существенно влияет на уровень TREC/KREC: недоношенность может сопровождаться транзиторными изменениями иммунной системы, повышая риск ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

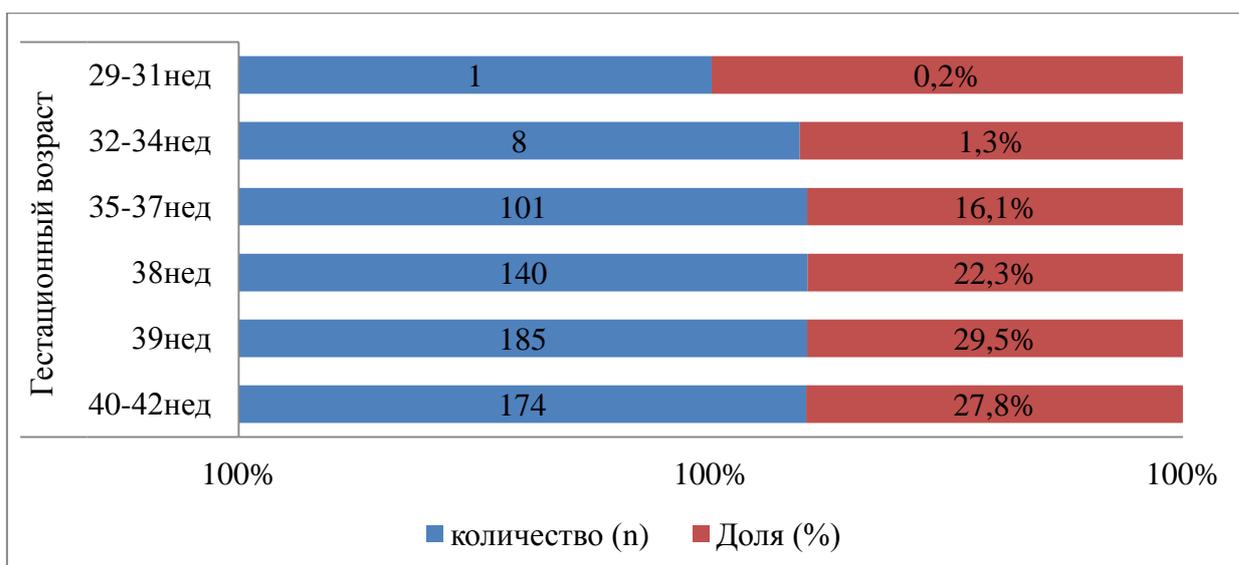


Рисунок 9–Срок гестации

Анализ антропометрических данных детей позволил выявить следующие данные:

Масса тела при рождении

- Большинство детей имели массу тела в пределах 3001–3500 г (n=265) и 3501–4000 г (n=191), что соответствует физиологической норме.
- 22 ребёнка имели массу менее 2500 г, включая 2 случая глубокой недоношенности (<2000 г) (рисунок 10).

Масса тела при рождении является дополнительным критерием оценки зрелости и соматического состояния, влияющим на показатели иммунной компетентности.

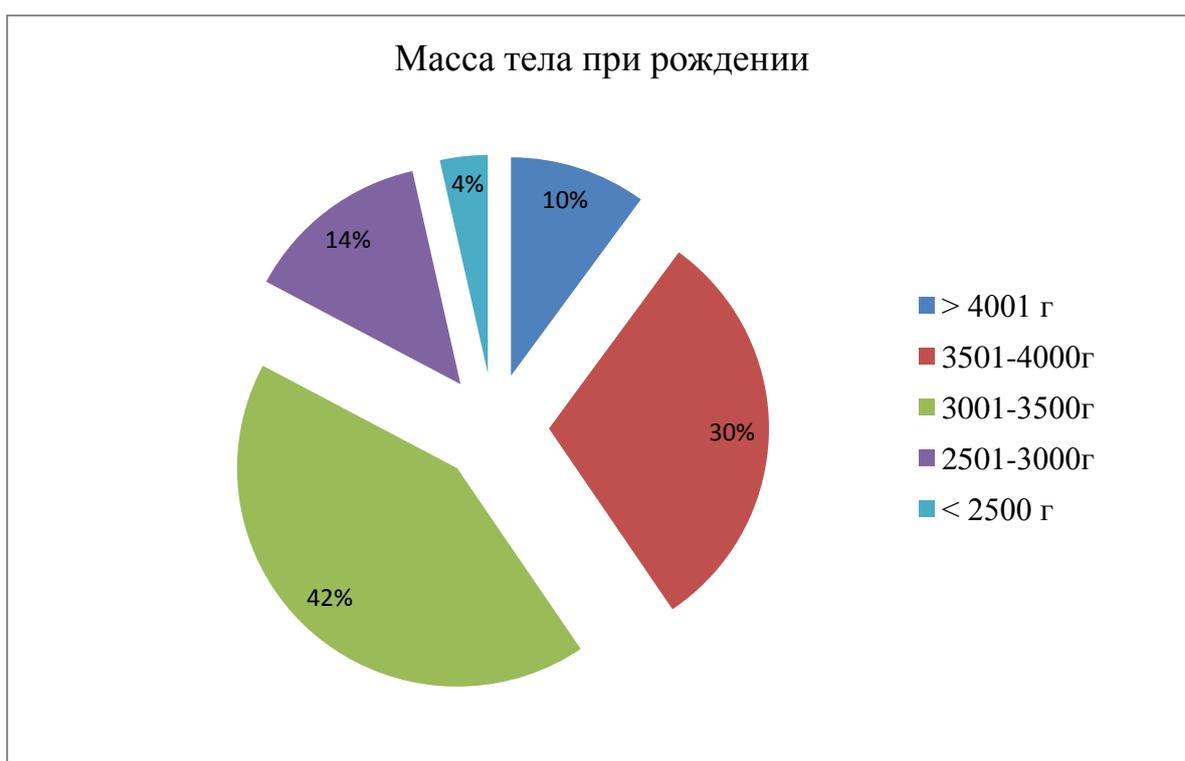


Рисунок 10–Масса тела при рождении

Рост при рождении

- 496 детей (79,1%) имели рост 45–55 см.
- Только 2 ребёнка — менее 45 см, что может коррелировать с гипотрофией и риском развития врождённых заболеваний(рисунок 11).

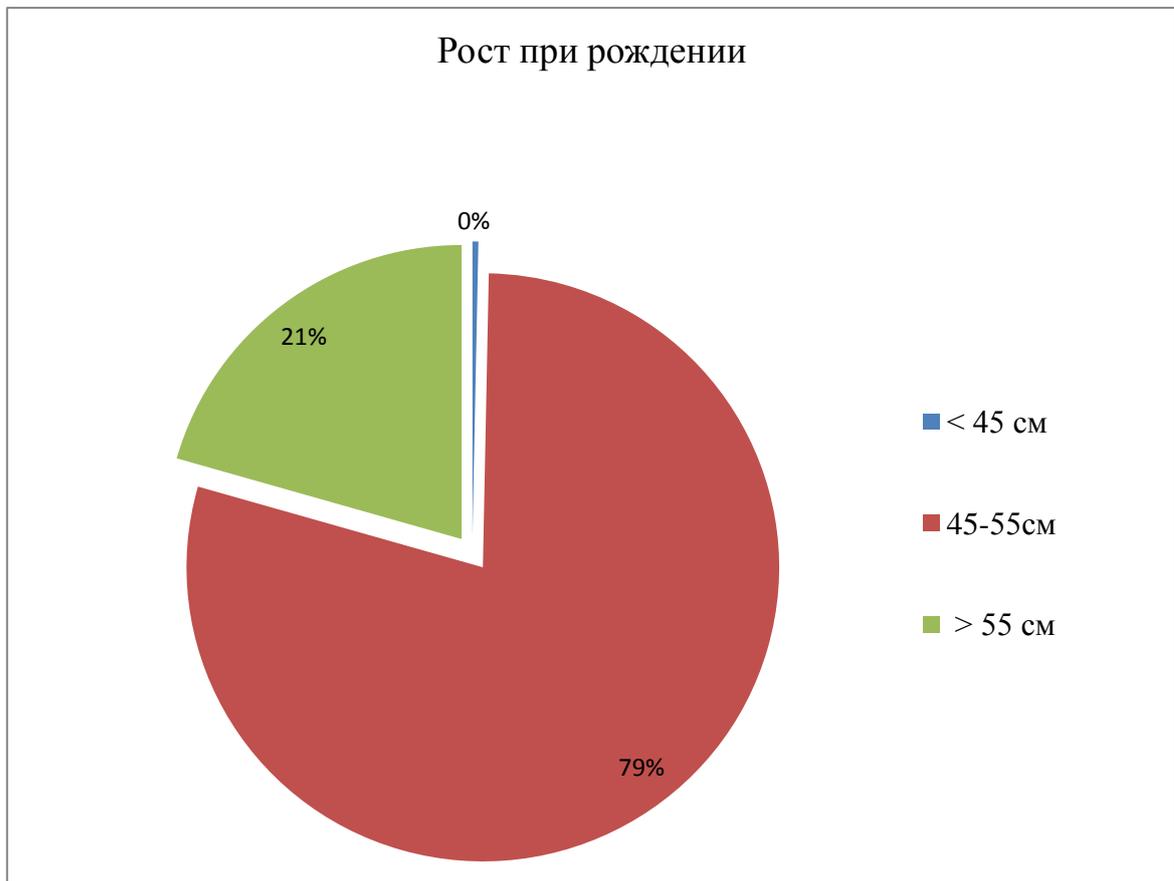


Рисунок 11–Рост при рождении

В ходе изучения тип вскармливания новорожденных было зафиксировано смешанное вскармливание у 339 детей (54%), грудное — у 277 (44,2%), искусственное — только у 11 (1,8%)(рисунок 12).

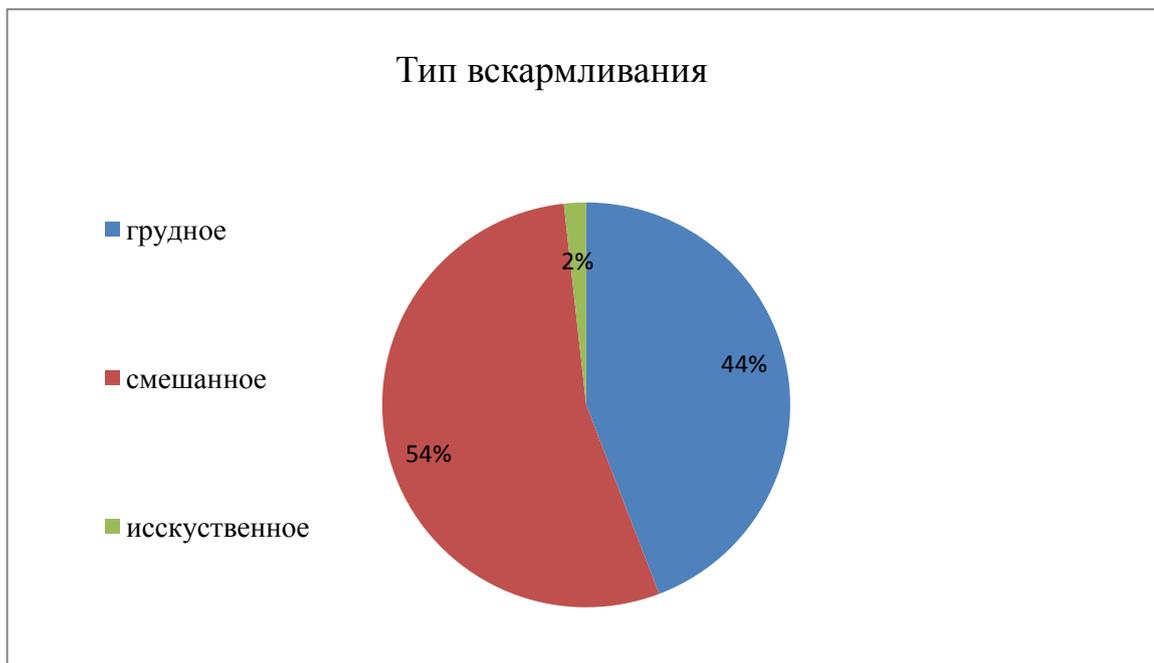


Рисунок 12–Тип вскармливания

При изучении параметров оценки состояния новорождённых были получены следующие данные(таблица 5):согласно шкале Апгар, отражающей общее состояние новорождённого в первые минуты жизни, у большинства обследованных (608; 97 %) показатели составляли 8/9 баллов, что свидетельствует о благополучном течении раннего неонатального периода. Лишь 19 новорождённых (3 %) имели оценки 7/8, что может коррелировать с возможными неонатальными нарушениями, включая гипоксию и стресс-реакции, потенциально влияющие на развитие иммунокомпетентных клеток.

Факт самостоятельного начала дыхания и крика сразу после рождения зарегистрирован у 601 ребёнка (95,8 %), что косвенно указывает на удовлетворительное функционирование центральной нервной и дыхательной систем, а также на минимальный риск асфиксии — одного из факторов, способных повлиять на развитие иммунной дисфункции. У 26 (4,2 %) новорождённых крик был отсрочен, что требует дополнительного клинического анализа.

Особое значение для иммунного статуса новорождённого имеет характер вскармливания и сроки первого контакта с матерью. У 609 (97,1 %) детей грудное вскармливание было начато в первый день жизни, что важно для раннего поступления в организм новорождённого иммуноглобулинов и других биологически активных компонентов. В 18 случаях (2,9 %) прикладывание к груди было отложено либо отсутствовало, что может оказывать влияние на

формирование микробиоты и развитие иммунных механизмов на первом этапе жизни.

Согласно клинической документации, подавляющее большинство новорождённых (606; 96,7 %) находились в отделении физиологии новорождённых, в то время как 21 (3,3 %) были переведены в отделение реанимации и интенсивной терапии новорождённых (ОРИТН). Госпитализация в ОРИТН может указывать на наличие факторов риска тяжёлых перинатальных состояний, которые, в свою очередь, могут влиять на репликативную активность Т- и В-лимфоцитов, определяемую в тесте ТREC/КREC.

Таблица 5 –Параметры оценки состояния новорождённых

Параметр	Категория	количество (n)	Доля (%)
Оценка по Шкале Апгар	8/9	608	97,0%
	7/8	19	3,0%
Закричал сразу	да	601	95,8%
	нет	26	4,2%
На какие сутки приложили ребенка к груди?	1-день	609	97,1%
	2-день	2	0,6%
	3-день	5	0,7%
	нет, через бутылку	11	1,7%
Отделение пребывания	Физиология	606	96,7%
	ОРИТН	21	3,3%

При изучении врожденных аномалии новорожденных были выявлены, что среди врождённых аномалий наибольшую долю составили врождённые пороки сердца (ВПС), выявленные у 67 новорождённых (11,0%). Пороки мочевыделительной системы (МВС) встречались в 48 случаях (7,9%), а аномалии, связанные с центральной нервной системой, — в 27 случаях (4,4%). Тимомегалия, как потенциальный иммунологически значимый маркер, была диагностирована у 23 новорождённых (3,8%). Врождённые пороки желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) встречались реже — в 9 случаях (1,5%). При этом подавляющего большинства новорождённых (n=488, 79,8%) врождённые аномалии не выявлены(рисунок 13).

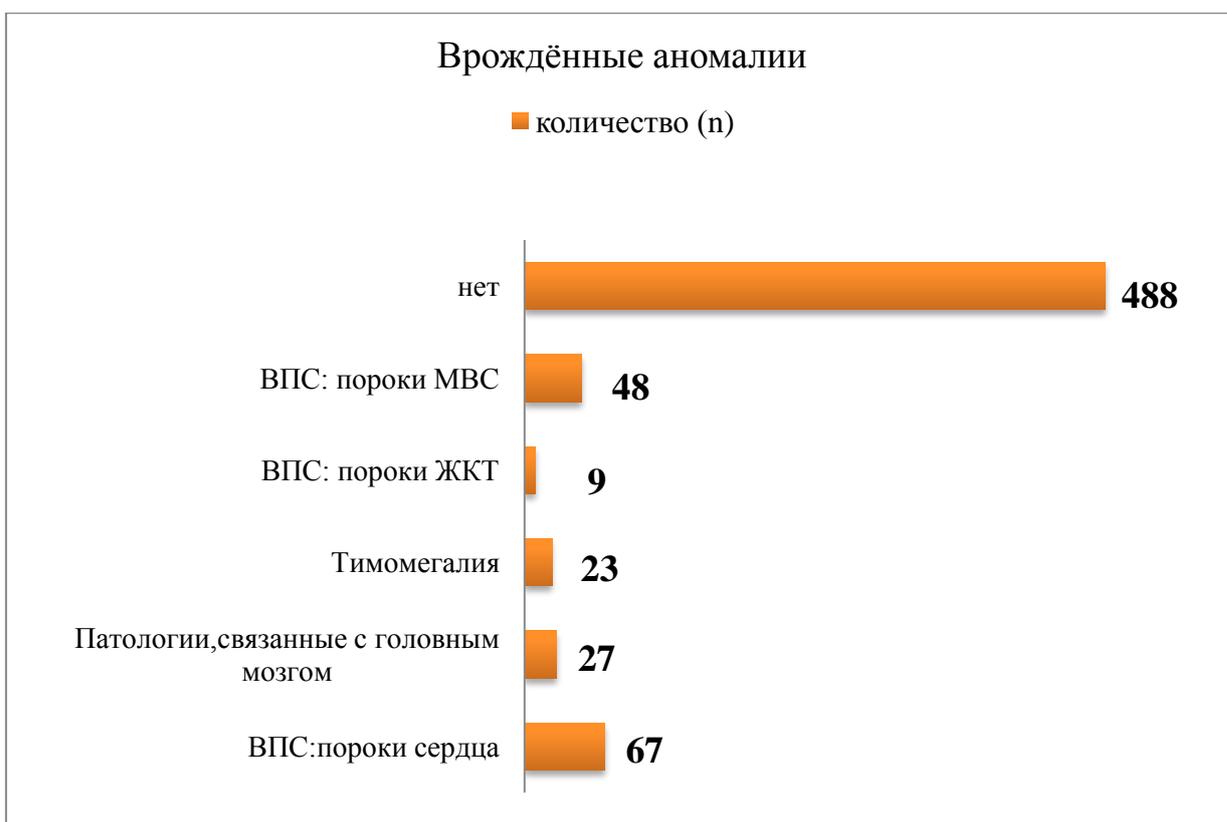


Рисунок 13—Врождённые аномалии

В разделе заболеваний, перенесённых в неонатальном периоде, доминирующим состоянием оказалась физиологическая или пролонгированная желтуха новорождённых ($n=529$, 86,5%). Частота двусторонней пневмонии составила 13,4% ($n=82$), что также может иметь значение при интерпретации иммунологических маркеров. Болезни нервной системы, в том числе перинатальная энцефалопатия (БЭН) и судороги, наблюдались у 24 и 4 новорождённых соответственно. Прочие состояния — дисфункция ЖКТ ($n=27$), омфалит ($n=16$), инфекции перинатального периода ($n=9$), диарея, дисбактериоз, сыпь, атопический дерматит, пиодермия — встречались реже, но также были учтены при анализе, поскольку могут коррелировать с иммунной реактивностью (рисунок 14).



Рисунок 14—Заболевания в неонатальном периоде

Данные параметры важны для стратификации риска при интерпретации результатов анализа TREC и KREC, поскольку ряд врождённых аномалий и заболеваний может ассоциироваться с нарушениями формирования Т- и В-клеточного звена иммунной системы. Интеграция клинических и молекулярных показателей позволяет повысить чувствительность и специфичность неонатального скрининга на первичные иммунодефициты.\

В рамках анализа анамнестических данных была изучена частота заболеваний, перенесённых матерями в период беременности. Полученные данные представлены в таблице и демонстрируют разнообразие патологических состояний, которые могли потенциально повлиять на формирование иммунной системы плода(рисунок 15).

Наиболее часто встречающиеся заболевания:

- Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) — зарегистрированы у 70 женщин (11,2% от всей выборки),
- Токсикоз — у 56 (8,9%),
- Анемия беременных — у 55 (8,8%).
- Менее распространённые, но также зафиксированные состояния включали:
- Инфекции, передающиеся половым путём (ИППП) — 6 случаев,
- Кандидоз — 5 случаев,
- Преэклампсия — 5 случаев,
- Острый бронхит — 4 случая,
- Цистит и гайморит — по 3 случая,

- Корь во время беременности, аппендэктомия, пневмония — по 2 случая,
- COVID-19 — 1 случай.

Распределение заболеваний позволяет выделить доминирование инфекционных факторов, особенно вирусной этиологии, а также нередкие проявления акушерской патологии. Наличие таких состояний у матери может рассматриваться как потенциальный фактор риска нарушения иммунной регуляции у новорождённого и обоснование необходимости раннего иммунологического скрининга.



Рисунок 15–Болезни матерей во время беременности

Анализ анамнестических данных показал, что часть матерей обследуемых новорождённых имели различные хронические и острые заболевания, по поводу которых состояли на диспансерном учете во время беременности. В рисунке ниже представлены наиболее часто встречающиеся патологии (рисунок 16).

Наиболее распространёнными заболеваниями среди матерей были:

- артериальная гипертензия (21 случай),
- гестационный сахарный диабет (12 случаев),
- гипотиреоз (9 случаев),
- хронический холецистит (9 случаев),
- гестационная артериальная гипертензия (8 случаев),
- диффузно-узловой зоб (6 случаев),

- сахарный диабет 2 типа и варикозное расширение вен нижних конечностей (по 5 случаев каждое).

Остальные заболевания встречались значительно реже — от одного до трёх случаев. В частности, были зафиксированы единичные случаи аутоиммунного тиреоидита, гепатита В, бронхиальной астмы, системной красной волчанки и других.



Рисунок 16—Заболевания матерей, состоящих на диспансерном учете

Таким образом, полученные анамнестические и клинические данные позволили учитывать факторы риска, потенциально влияющие на показатели скрининга по TREC и KREC, что имеет значение для корректной интерпретации результатов.

Глава 4. ОЦЕНКА СКРИНИНГОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВА TREC/KREC У НОВОРОЖДЕННЫХ ИЗ ГРУППЫ РИСКА

За последние десять лет особое внимание уделяется скринингу врожденных ошибок иммунитета (ВОИ) у новорождённых с применением молекулярно-генетических методов, в частности — определению универсальных маркеров Т- и В-клеточных иммунодефицитов. К таковым относятся Т-рецепторные эксцизионные кольца (T-cell receptor excision circles — TREC) и В-клеточные эксцизионные кольца (kappa-deleting recombination excision circles — KREC), использование которых позволяет оценить процессы формирования и зрелости Т- и В-лимфоцитов соответственно [139,140]. Среди первых стран, внедривших данный метод в практику национальных программ неонатального скрининга, следует отметить Соединённые Штаты Америки и Швецию, где данная методика применяется широко и повсеместно.

Третьим этапом нашего исследования было проведение сравнительного анализа значений количественных показателей TREC и KREC рецепторов лимфоцитов в сухих пятнах крови, взятых в ранний неонатальный период у новорожденных. Работа проводилась на базе: ГКП на ПХВ «Городская детская больница №1» г.Астаны, ТОО «Национальный центр биотехнологии».

Данная работа выполнялась в рамках совместного проекта «Генетический скрининг новорожденных на иммунодефицитные состояния в Казахстане: пилотное исследование» совместно с ТОО «Национальный центр биотехнологии».

На первом этапе нашей работы был проведен одномоментный поперечный анализ 627 новорожденных детей, поступившие в стационарное лечение в период с 01 сентября 2023г по 20 марта 2025г . На втором этапе проведена оценка клинико-anamnestических и лабораторных данных. У всех новорожденных взяты образцы сухих пятен крови для определения маркеров ВОИ – TREC/KREC. Всего было исследовано 344 образца сухих пятен крови от мальчиков и 283 образцов сухих пятен крови от девочек. Согласно установленным этическим нормам, у родителей исследуемых пациентов было получено информированное согласие.

Критерии включения в исследование:

- дети обоих полов родившиеся с 01.10.2023 по 20.03.2025 года
- недоношенные с низкой и экстремально низкой массой тела
- новорожденные, родившиеся от матерей с отягощенным акушерским анамнезом
- новорожденные с врожденными пороками развития

Критерии исключения из исследования:

- Дети старше 28 дней
- добровольный отказ испытуемых от участия в исследованиях.

4.1 Количественная оценка кольцевых структур TREC/KREC

В настоящей диссертационной работе была проведена всесторонняя оценка значимости молекулярно-генетического скрининга TREC и KREC у новорожденных в Республике Казахстан для выявления ВОИ. Актуальность данного исследования обусловлена высокой летальностью и инвалидизирующим течением ВОИ, а также выявленным уровнем гиподиагностики в Казахстане.

В рамках исследования был осуществлен количественный анализ уровней TREC и KREC на фильтровальных картах (высушенных пятнах крови) у 627 новорождённых детей из группы риска. Параллельно проводился сбор анамнестических, демографических и клинико-эпидемиологических данных: масса тела, рост, срок гестации, наличие болезней у ребёнка и матери, врождённые аномалии, патология беременности, особенности вскармливания, пол, отделение пребывания после родов.

В данном разделе представлены результаты статистической обработки данных, полученных при проведении скрининга новорождённых на иммунодефицитное состояние с использованием количественных тестов TREC и KREC. Анализ включает корреляционный анализ, сравнение средних значений, дисперсионный анализ, а также визуализацию результатов с помощью графиков и таблиц.

На представленных гистограммах (рисунок 17) отражено распределение количества новорождённых по категориям значений TREC и KREC в соответствии с установленными пороговыми значениями: для TREC — более 30 копий/мкл (норма), для KREC — более 15 копий/мкл (норма).

Как видно из графиков, большинство обследованных новорождённых демонстрировали значения TREC и KREC в пределах нормы, что свидетельствует об удовлетворительном состоянии Т- и В-клеточного звеньев иммунной системы в раннем неонатальном периоде. Однако в обеих категориях выявлены подгруппы новорождённых с показателями, находящимися ниже пороговых значений, что указывает на риск наличия или развития иммунодефицитных состояний.

Следует отметить, что доля новорождённых с пониженным уровнем TREC оказалась существенно выше по сравнению с группой с пониженным уровнем KREC, что подчёркивает большую частоту нарушений тимической продукции Т-лимфоцитов по сравнению с дефицитом продукции В-лимфоцитов в исследуемой выборке. Такие результаты подтверждают необходимость дальнейшего наблюдения и дополнительного иммунологического обследования данной категории детей.

Гистограммы визуализируют диспропорцию между группами нормы и риска, подчёркивая целесообразность использования количественного анализа TREC и KREC в составе программ неонатального скрининга для раннего выявления первичных иммунодефицитов и прогнозирования неблагоприятных исходов в раннем детстве.

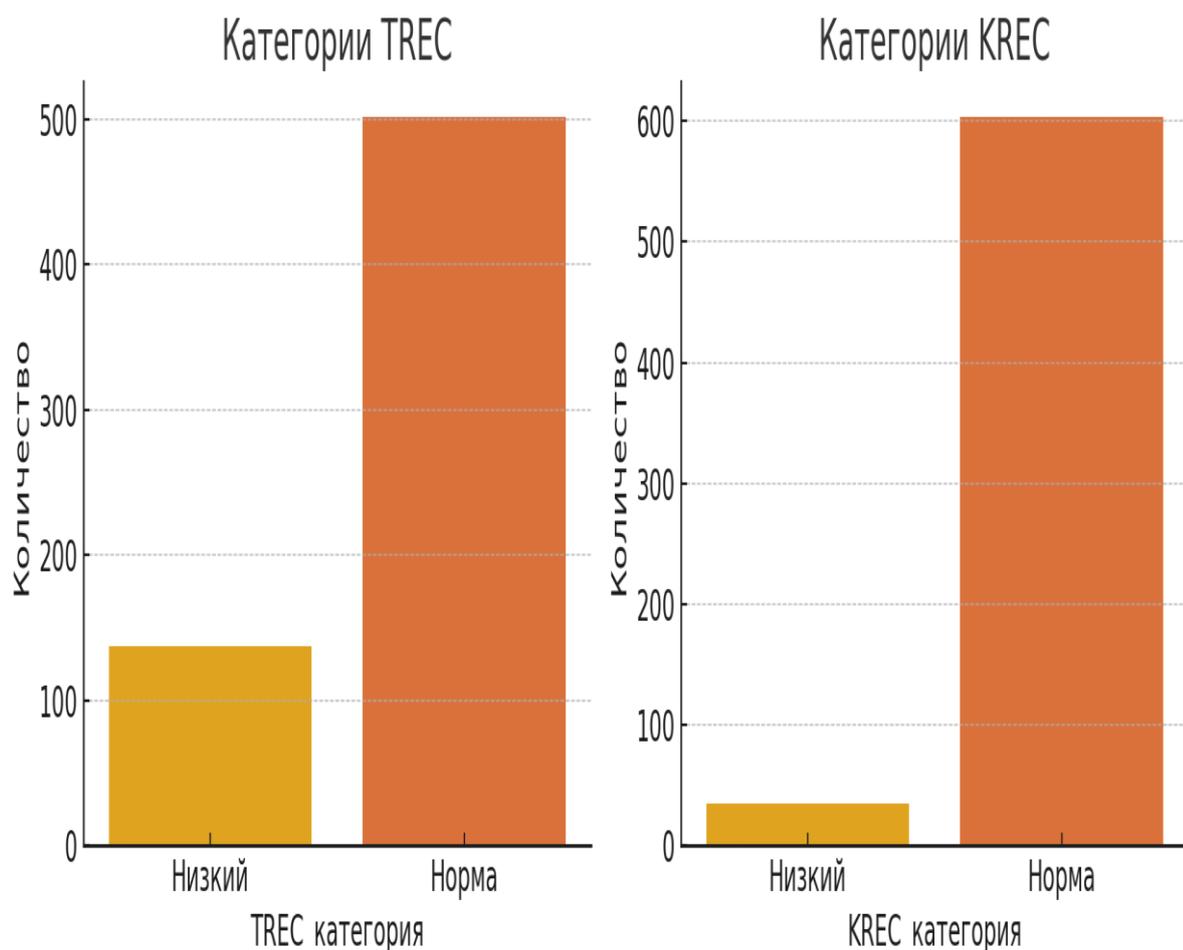


Рисунок 17 – Распределение по категориям TREC и KREC

Для количественных переменных TREC и KREC проведена оценка основных параметров описательной статистики, включая средние значения, медиану и стандартное отклонение. Кроме того, с целью определения соответствия данных нормальному распределению был использован критерий Шапиро–Уилка. Результаты анализа представлены в таблице 6.

Среднее значение уровня TREC составило 49,520 копий, медианное значение — 39,290, стандартное отклонение — 23,851. Для KREC среднее значение оказалось равным 45,150 копий, медиана — 43,566, стандартное отклонение — 19,085. В обоих случаях критерий Шапиро–Уилка продемонстрировал статистически значимое отклонение от нормального распределения ($p = 0,000$), что свидетельствует о наличии существенной асимметрии данных и обосновывает необходимость применения непараметрических методов статистической обработки при сравнительном анализе указанных переменных, в частности, критерия Манна–Уитни.

Полученные результаты подчёркивают высокую вариабельность значений TREC и KREC в выборке новорождённых, что может быть связано с индивидуальными особенностями становления иммунной системы, а также отражать влияние ряда перинатальных и материнских факторов. Таким

образом, при интерпретации данных и построении статистических моделей, направленных на оценку влияния различных факторов на уровни TREC и KREC, необходимо учитывать отклонение от нормального распределения и использовать адекватные статистические подходы.

Показатель	Среднее	Медиана	Ст. отклонение	p (Шапиро–Уилка)
TREC	49.520	39.290	23.851	0.000
KREC	45.150	43.566	19.085	0.000

Таблица 6 – Статистика уровней TREC и KREC у новорождённых с проверкой нормальности распределения (критерий Шапиро–Уилка)

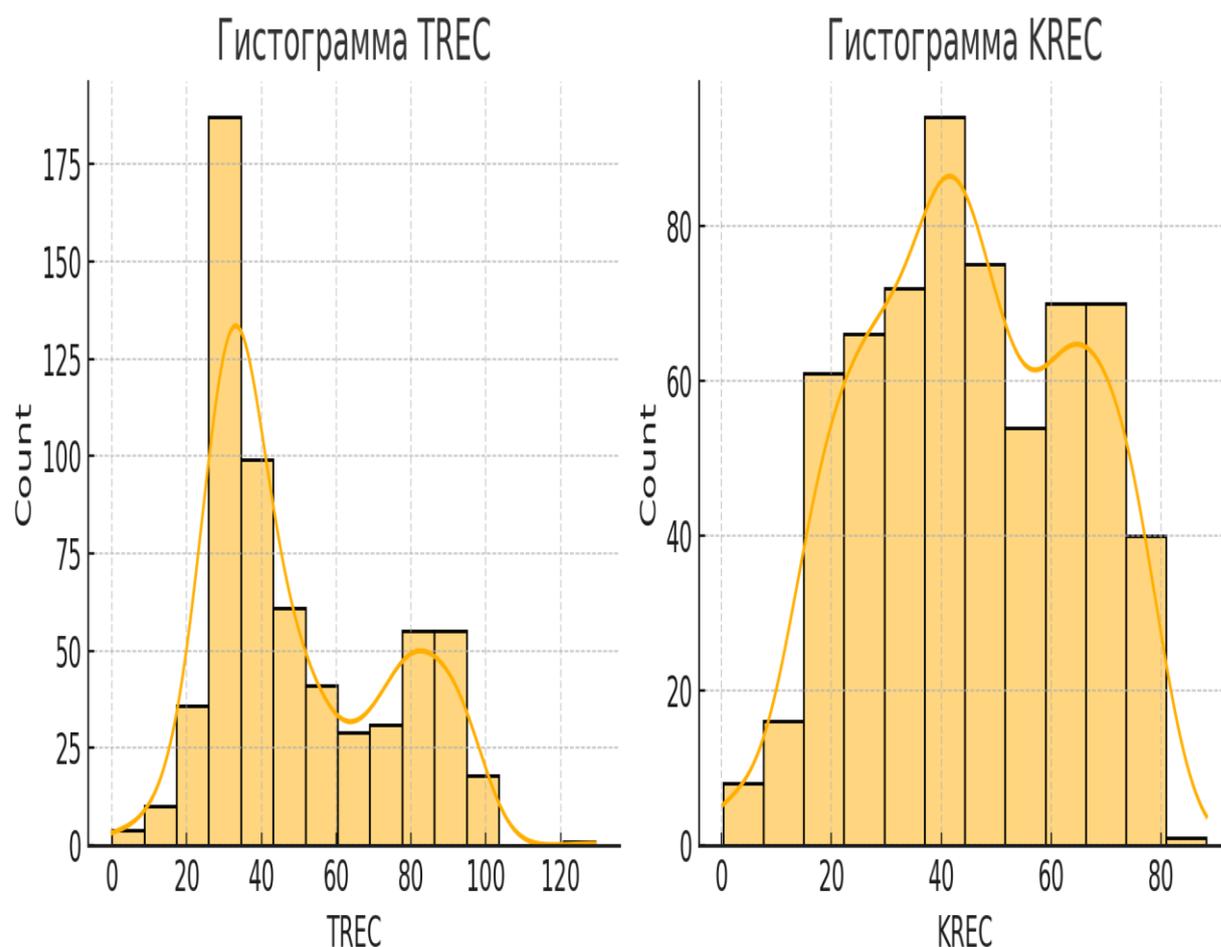


Рисунок 18 – Распределение значений TREC и KREC

С целью оценки влияния пола новорождённых, наличия врождённых аномалий и заболеваний матери (диспансерный учёт) на уровни TREC и KREC был проведён сравнительный анализ средних значений указанных маркеров с применением t-теста для независимых выборок (Рисунок 19).

Анализ по половому признаку показал, что средние значения TREC у мальчиков и девочек составили 49,36 и 49,71 соответственно; различия не достигли статистически значимого уровня ($p = 0,856$). В то же время для KREC выявлены достоверные различия: у мальчиков среднее значение составило 46,75, у девочек — 43,20 ($p = 0,019$), что свидетельствует о более высоком уровне В-клеточной продукции у новорождённых мужского пола.

При анализе влияния врождённых аномалий установлено, что у новорождённых без аномалий средний уровень TREC был выше (50,65 против 45,53; $p = 0,029$). В отношении KREC в аналогичных группах различия не достигли статистической значимости (45,72 против 43,13; $p = 0,190$), что может свидетельствовать о меньшей чувствительности данного показателя к врождённым аномалиям.

Значимое снижение уровня TREC также было зафиксировано у детей, рождённых от матерей с хроническими заболеваниями, состоящих на диспансерном учёте (38,41 против 50,14; $p = 0,013$), что подтверждает возможное влияние соматической патологии матери на формирование Т-клеточного звена иммунной системы новорождённого.

Таким образом, результаты анализа демонстрируют наличие статистически значимых различий уровней KREC по полу и TREC по наличию врождённых аномалий и заболеваний матери. Эти данные подчёркивают необходимость учета данных факторов при интерпретации результатов скрининга на TREC и KREC у новорождённых.

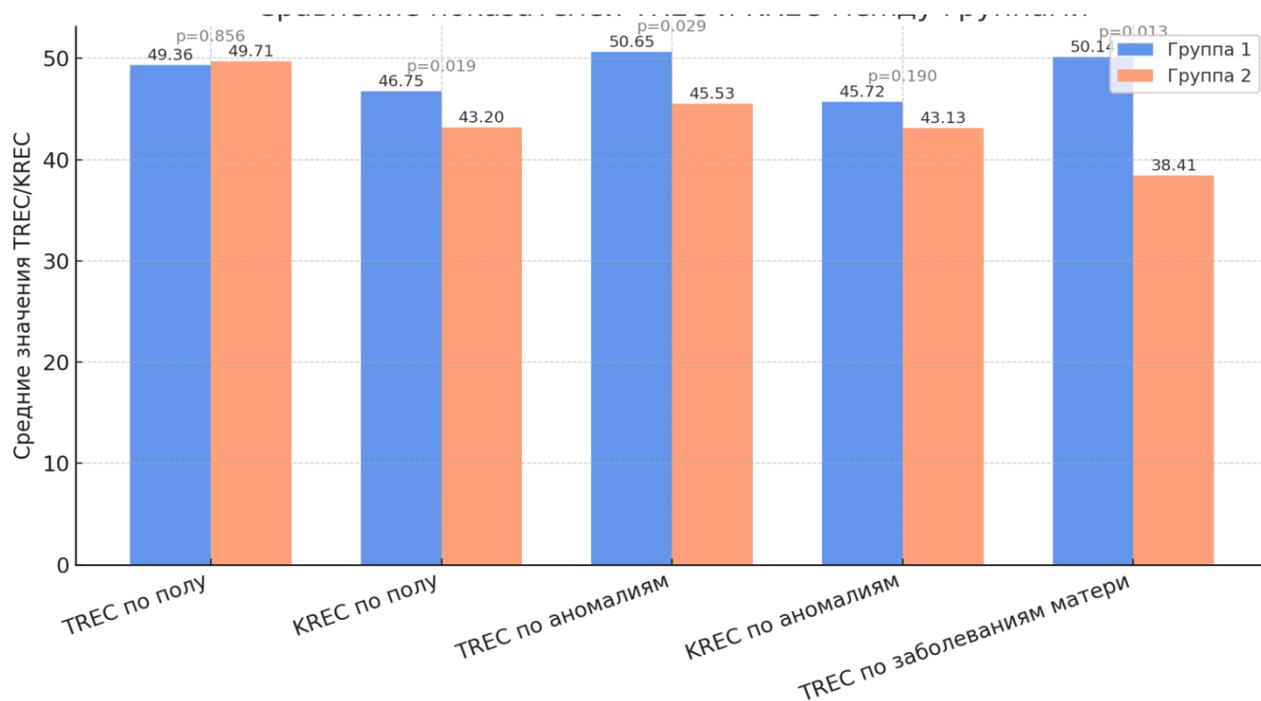


Рисунок 19 – Результаты сравнения средних значений TREC и KREC между группами новорождённых по полу, наличию врождённых аномалий и заболеваниям матери.

Для оценки взаимосвязи между уровнями TREC и KREC и физиологическими характеристиками новорождённых был проведён сравнительный анализ массы тела, роста и срока гестации в группах с нормальными и пониженными значениями указанных маркеров. Статистическая обработка данных осуществлялась с применением t-теста для независимых выборок (Рисунок 20).

Полученные данные демонстрируют наличие статистически значимых различий во всех анализируемых параметрах. Так, у новорождённых с пониженными значениями TREC средние показатели массы тела, роста и срока гестации были достоверно ниже по сравнению с группой с нормальными значениями данного маркера. В частности, масса тела при рождении составила 3249 г против 3469 г ($p = 0,00016$), длина тела — 52,5 см против 53,4 см ($p = 0,003$), а средний гестационный возраст — 37,9 недели против 38,8 недели ($p < 0,000001$).

Аналогичная динамика наблюдалась и при анализе KREC. Однако в данной группе различия были ещё более выраженными. Средняя масса тела у новорождённых с низким уровнем KREC составила 2508 г против 3461 г в группе нормы ($p < 0,000001$), а средняя длина тела — 48,7 см против 53,4 см ($p < 0,000001$). При этом срок гестации в данной категории параметров в анализ не включался, ввиду особенностей распределения данных.

Таким образом, результаты анализа подтверждают, что низкие уровни TREC и KREC ассоциируются с незрелостью организма, о чём свидетельствуют сниженные антропометрические показатели и более короткий гестационный срок. Особое внимание заслуживает тот факт, что показатели KREC демонстрировали более выраженные различия, что подчёркивает их высокую чувствительность как маркера незрелости новорождённых.

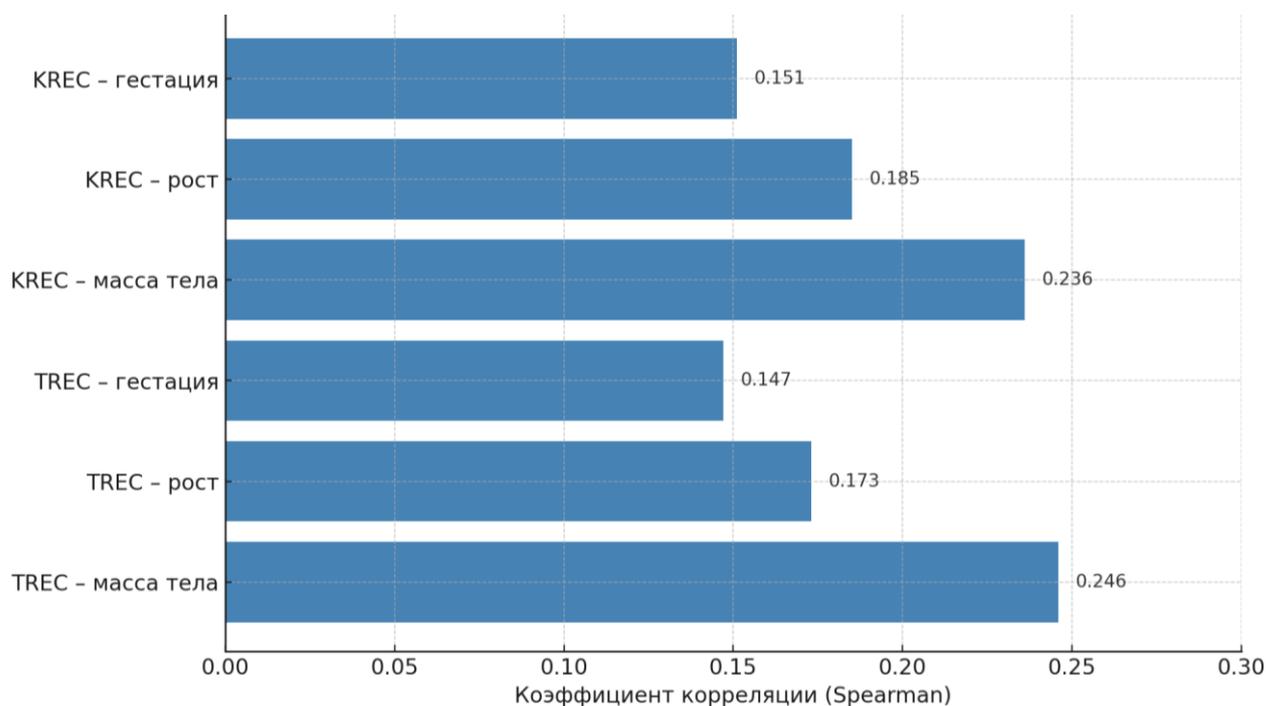


Рисунок 20 – Сравнение физиологических показателей по категориям TREC и KREC

Для оценки влияния врождённых аномалий и заболеваний матери на уровни TREC и KREC у новорождённых был проведён однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Данный метод позволил проанализировать различия между средними значениями исследуемых параметров в зависимости от наличия или отсутствия указанных факторов (Рисунок 21).

Согласно полученным данным, наличие врождённых аномалий у новорождённых оказывало статистически значимое влияние на уровни TREC ($p = 0,025$), тогда как различия в уровнях KREC в данной группе не достигли уровня статистической значимости ($p = 0,157$). Средний уровень TREC у детей с аномалиями составил 45,5, а у детей без аномалий — 50,7. Для KREC аналогичные значения составили 43,1 и 45,7 соответственно.

При анализе влияния заболеваний матери установлено, что уровни TREC были значительно ниже у новорождённых, чьи матери имели хронические или острые заболевания (38,4 против 50,1; $p = 0,006$). Для KREC в аналогичных группах отмечена тенденция к снижению показателя (39,3 против 45,5), однако различия не достигли статистически значимого уровня ($p = 0,071$).

Таким образом, проведённый анализ продемонстрировал, что наиболее выраженное влияние как врождённых аномалий у новорождённых, так и заболеваний матери отражается на уровне TREC, в то время как KREC является менее чувствительным к указанным факторам. Эти данные подтверждают особую чувствительность TREC к факторам, влияющим на тимическую продукцию Т-лимфоцитов в неонатальном периоде.

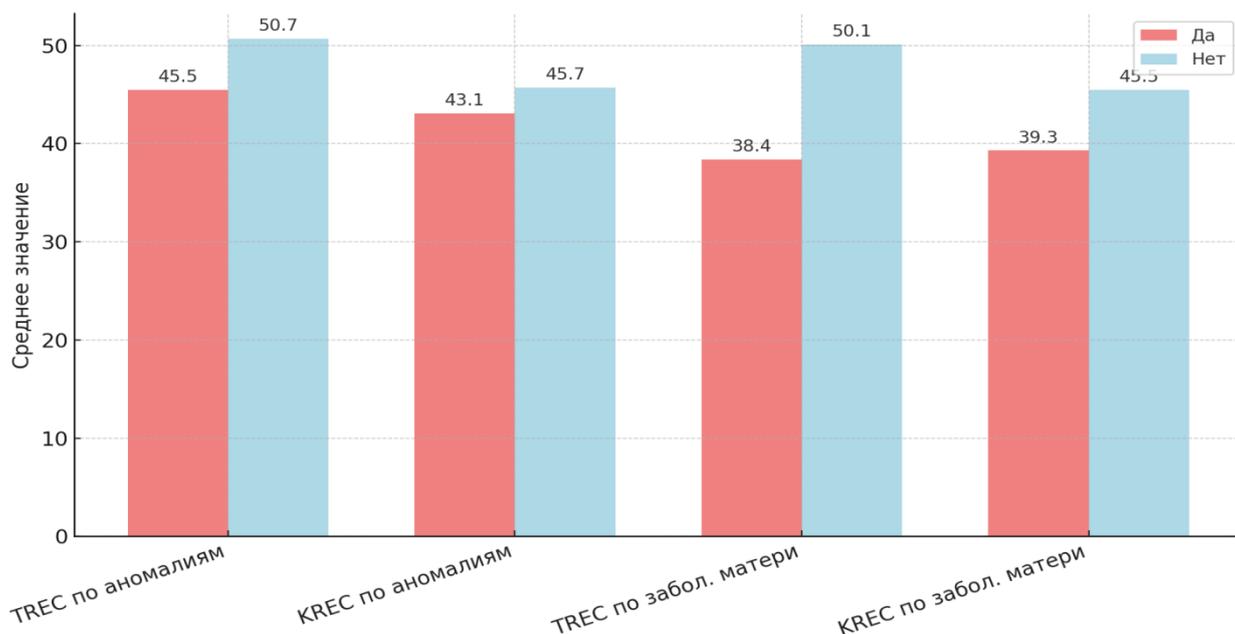


Рисунок 21– Результаты дисперсионного анализа (ANOVA)

С целью определения степени взаимосвязи между количественными уровнями TREC и KREC и основными физиологическими показателями новорождённых (масса тела при рождении, длина тела и срок гестации) был проведён корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Результаты анализа представлены на корреляционной матрице (Рисунок 22).

Анализ показал, что уровни KREC продемонстрировали слабую, но статистически значимую положительную корреляцию с массой тела ($r = 0,24$), ростом при рождении ($r = 0,19$) и сроком гестации ($r = 0,22$). В то же время уровень TREC также показал слабую положительную связь с массой тела ($r = 0,11$), ростом ($r = 0,09$) и гестационным возрастом ($r = 0,13$), однако сила корреляции оказалась менее выраженной по сравнению с KREC.

Наибольшая сила взаимосвязи была отмечена между классическими физиологическими показателями: масса тела и рост новорождённых ($r = 0,79$), а также масса тела и срок беременности ($r = 0,56$), что подтверждает высокую степень их взаимной зависимости и прогностическую ценность.

Полученные данные позволяют заключить, что показатели KREC, в отличие от TREC, более тесно связаны с физиологическими параметрами новорождённых, отражая зрелость В-клеточного звена иммунной системы в раннем неонатальном периоде. Слабая, но достоверная корреляция между TREC и изучаемыми показателями также подтверждает влияние соматического состояния и гестационного возраста на параметры тимической продукции Т-лимфоцитов.

Таким образом, результаты корреляционного анализа подтверждают, что уровни TREC и KREC могут служить дополнительными маркерами оценки зрелости иммунной системы и общего физиологического состояния новорождённых в первые дни жизни.

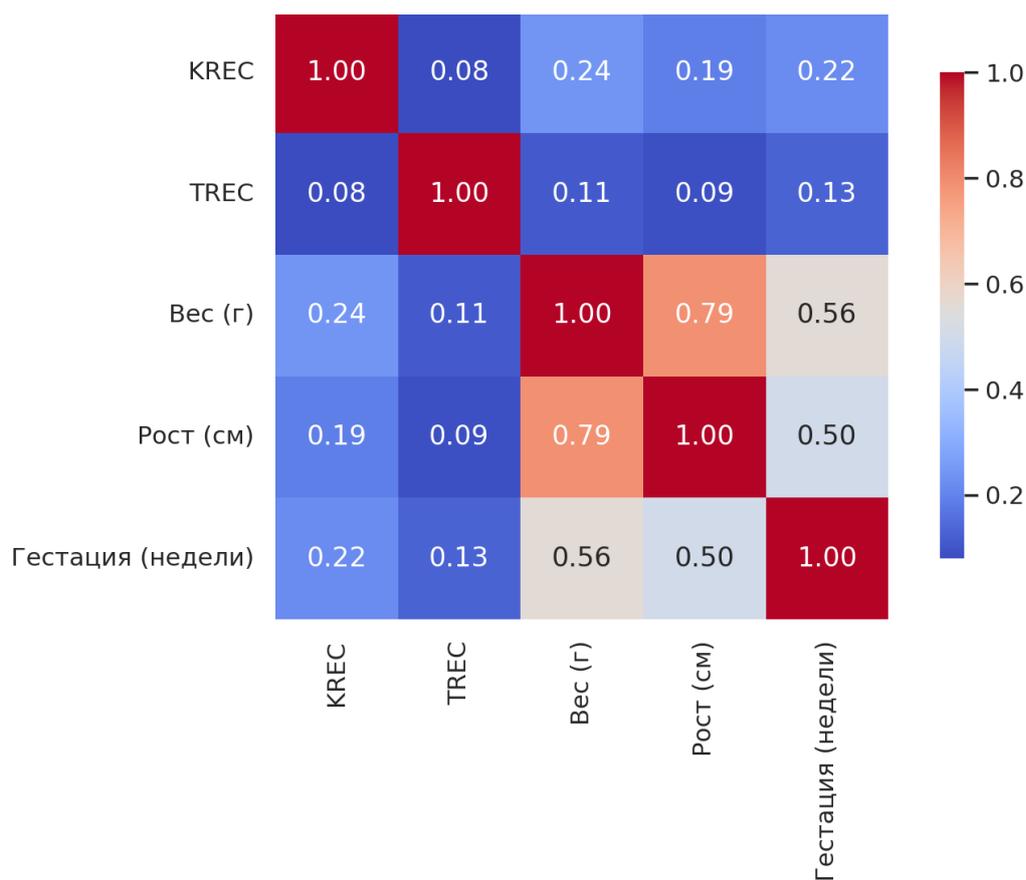


Рисунок 22– Корреляционная матрица взаимосвязи уровней TREC и KREC с физиологическими параметрами новорождённых

Проведённый статистический анализ данных позволил комплексно оценить диагностическую и прогностическую значимость количественного определения TREC и KREC у новорождённых. Полученные результаты подтвердили, что данные маркеры обладают не только высокой информативностью в контексте раннего выявления первичных иммунодефицитов, но и отражают ряд характеристик физиологического состояния новорождённого, а также факторов риска неблагоприятного течения перинатального периода.

Установлено, что уровни TREC и KREC демонстрируют выраженную корреляционную связь с антропометрическими показателями новорождённых, такими как масса тела, длина тела и гестационный возраст. Это подтверждает возможность использования указанных маркеров как индикаторов зрелости иммунной системы в раннем неонатальном периоде.

Особое внимание заслуживает выявленная гендерная зависимость уровня KREC: у новорождённых женского пола данный показатель оказался статистически достоверно ниже по сравнению с мальчиками, что, вероятно, отражает особенности формирования В-клеточного звена иммунной системы у девочек на ранних этапах постнатального развития.

Кроме того, наличие врождённых пороков развития и соматической патологии у матерей коррелировало со снижением уровня TREC у новорождённых, что может указывать на негативное влияние пренатальных факторов на тимическую продукцию Т-лимфоцитов.

Анализ также показал, что дети с низкими значениями TREC и KREC имели меньшие показатели массы тела при рождении, длины тела и более короткий гестационный срок, что подтверждает взаимосвязь между дефицитом продукции Т- и В-клеток и незрелостью организма.

Применение критерия Шапиро–Уилка для оценки распределения данных подтвердило отклонение от нормального закона распределения, что обосновывает использование непараметрических статистических методов при анализе данных данной категории.

Важно отметить, что показатели KREC продемонстрировали более высокую чувствительность к признакам незрелости новорождённых и наличие осложнённого течения беременности, что делает этот параметр перспективным маркером для ранней оценки риска развития неблагоприятных исходов у новорождённых.

Таким образом, результаты проведённого исследования свидетельствуют о высокой диагностической и прогностической значимости количественного определения TREC и KREC у новорождённых. Внедрение данной методики в скрининговые программы неонатального периода позволяет не только выявлять первичные иммунодефициты на ранних стадиях, но и использовать её в качестве дополнительного инструмента для оценки степени зрелости иммунной системы, а также предсказания риска развития неблагоприятных перинатальных состояний, что имеет важное клинико-практическое и социально-экономическое значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей диссертационной работе была проведена всесторонняя оценка значимости молекулярно-генетического скрининга TREC и KREC у новорожденных в Республике Казахстан для выявления врожденных ошибок иммунитета (ВОИ).

Выполненное исследование количественного определения TREC и KREC у новорождённых из группы риска в Республике Казахстан впервые позволило оценить возможности внедрения данных маркеров в систему неонатального скрининга на врождённые ошибки иммунитета (ВОИ). Полученные результаты подтверждают актуальность и целесообразность применения молекулярно-генетических методов для ранней диагностики ПИД, а также показывают высокую диагностическую и прогностическую значимость TREC и KREC в популяции новорождённых.

В рамках исследования был осуществлен количественный анализ уровней TREC и KREC на фильтровальных картах (высушенных пятнах крови) у 627 новорождённых детей из группы риска. Параллельно проводился сбор анамнестических, демографических и клинико-эпидемиологических данных: масса тела, рост, срок гестации, наличие болезней у ребёнка и матери, врождённые аномалии, патология беременности, особенности вскармливания, пол, отделение пребывания после родов.

Показано, что уровни данных маркеров (TREC/KREC) достоверно коррелируют с основными физиологическими показателями новорождённых, включая массу тела, рост и срок гестации, что полностью соответствует данным литературы [133,134]. В частности, у детей с низкими значениями TREC и KREC выявлены статистически значимо меньшие показатели массы тела, роста и более короткий гестационный срок. Это свидетельствует о тесной взаимосвязи незрелости организма с недостаточностью продукции Т- и В-лимфоцитов.

Нами установлены статистически значимые различия уровней TREC и KREC между доношенными и недоношенными детьми, а также детьми с низкой и нормальной массой тела, что также подтверждается международными исследованиями [135,136]. Особое внимание заслуживает выявленная гендерная особенность: у девочек уровень KREC оказался статистически достоверно ниже, что, вероятно, связано с особенностями формирования В-клеточного звена иммунной системы у новорождённых женского пола [137].

Дополнительно установлено, что низкие уровни TREC и KREC ассоциируются с наличием врождённых аномалий у ребёнка, а также с тяжёлой соматической патологией у матери, что подчёркивает значимость пренатальных факторов в нарушении тимической продукции Т-клеток и формировании В-клеточного иммунитета [136].

Проведённая статистическая обработка с использованием критерия Шапиро–Уилка выявила отклонение от нормального распределения, что

оправдывает использование непараметрических методов анализа, как это также показано в работах [138].

Примечательно, что KREC оказался более чувствительным маркером в оценке незрелости и перинатальной патологии, чем TREC, что согласуется с выводами [139]. Это открывает новые перспективы использования KREC как дополнительного скринингового маркера в популяционных программах.

Таким образом, проведённое исследование демонстрирует, что внедрение скрининга TREC и KREC в национальную программу неонатального скрининга в Республике Казахстан является обоснованным и перспективным. Полученные данные подтверждают эффективность и актуальность такого подхода, позволяющего не только своевременно выявлять тяжёлые комбинированные иммунодефициты и другие ВОИ, но и оценивать степень зрелости иммунной системы у новорождённых с учётом индивидуальных и клиничко-эпидемиологических факторов. Мировой опыт, включая результаты исследований [140,141,142,143], демонстрирует, что такие программы способствуют значительному снижению детской смертности и инвалидизации.

Таким образом, внедрение молекулярно-генетического скрининга TREC и KREC в рамках национальных программ Республики Казахстан позволит повысить выявляемость врождённых иммунодефицитов на ранних этапах и обеспечить своевременное начало лечения, улучшая тем самым качество и продолжительность жизни детей из группы риска. В условиях существующей гиподиагностики ВОИ в Казахстане реализация подобных инициатив представляется одной из приоритетных задач здравоохранения.

ВЫВОДЫ

1. При изучении уровней TREC и KREC с целью выявления врождённых иммунодефицитов было установлено, что средние значения TREC и KREC в исследуемой выборке составили 49,52 и 45,15 копий соответственно. Распределение показателей оказалось асимметричным ($p < 0,001$ по критерию Шапиро–Уилка).
2. Установлены статистически значимые различия уровней TREC и KREC между доношенными и недоношенными детьми, а также детьми с низкой и нормальной массой тела. Значения KREC оказались более чувствительными к перинатальной патологии и недоношенности, чем TREC. У новорождённых с пониженными уровнями TREC масса тела была достоверно ниже (3249 г против 3469 г, $p = 0,00016$), длина тела — 52,5 см против 53,4 см ($p = 0,003$), гестационный возраст — 37,9 против 38,8 недель ($p < 0,000001$). При сниженных уровнях KREC различия были ещё более выражены: масса тела — 2508 г против 3461 г ($p < 0,000001$), рост — 48,7 см против 53,4 см ($p < 0,000001$).
3. Анализ показал, что низкие значения TREC/KREC ассоциированы с наличием врождённых аномалий и заболеваний у ребёнка, а также с соматическими заболеваниями у матери. Так, значения TREC у новорождённых с врождёнными аномалиями были ниже на 5,1 копий (45,5 против 50,7; $p = 0,025$), а у детей, рождённых от матерей с хроническими заболеваниями, — на 11,7 копий (38,4 против 50,1; $p = 0,006$).
4. Проведённая корреляция и дисперсионный анализ выявили, что уровни TREC и KREC статистически значимо связаны с массой тела, сроком гестации, ростом, полом и рядом клинических факторов. Уровни KREC показали достоверную корреляцию с массой тела ($r = 0,24$), ростом ($r = 0,19$) и сроком гестации ($r = 0,22$), тогда как TREC продемонстрировал более слабую связь ($r = 0,11$; $0,09$; $0,13$ соответственно). У девочек средний уровень KREC оказался статистически значимо ниже, чем у мальчиков (43,2 против 46,75; $p = 0,019$), что, вероятно, связано с гендерными особенностями В-клеточного звена иммунитета.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется включить молекулярно-генетическое определение кольцевых участков ДНК Т-клеточного (TREC) и В-клеточного (KREC) рецепторов лимфоцитов (в сухом пятне крови или в образце цельной крови) в алгоритм обследования детей с выраженной лимфопенией, гипогаммаглобулинемией, хроническими воспалительными заболеваниями, а также у новорождённых с осложнённым поствакцинальным анамнезом.
2. При отсутствии TREC/KREC у ребёнка с признаками иммунологической недостаточности следует незамедлительно направить пациента на консультацию к врачу-иммунологу для проведения иммунофенотипирования лимфоцитов и определения уровня сывороточных иммуноглобулинов.
3. Включить информацию о современных методах молекулярной диагностики первичных иммунодефицитов в программы обучения и повышения квалификации для врачей неонатологического, педиатрического, генетического, пульмонологического и оториноларингологического профилей.
4. Рекомендуется внедрение молекулярно-генетического скрининга на TREC и KREC в национальную программу массового неонатального скрининга Республики Казахстан с целью раннего выявления первичных иммунодефицитных состояний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency // *Front Immunol.* – 2014.- Vol. 5, №4.- P. 162
- 2 Lehman H, Hernandez-Trujillo V, Ballou M. Diagnosing primary immunodeficiency: a practical approach for the non-immunologist // *Curr Med Res Opin* - 2015 - Vol. 31, №4 - P. 697-706
- 3 Modell V, Gee B, Lewis DB, Orange JS et al. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI)--diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation // *Immunol Res.* – 2011 - Vol. 51, №12 - s12026-011-8241-y.
- 4 Тузакина И.А. К вопросу диагностики иммунопатологии // *Медицинская иммунология.* – 2010. – Т. 12, №6. – С. 485-496.
- 5 Тузакина И.А., Каракина М.Л., Власова Е.В. Анализ клинических проявлений дебюта первичных иммунодефицитов у взрослых // *Медицинская иммунология.* – 2014. – Т. 16, №4. – С. 367-374.
- 6 Лунцов А.В., Скороходкина О.В., Нурхаметова Д.Ф. Инфекционный синдром у больных с первичными иммунодефицитами и возможности его коррекции // *Практическая медицина.* – 2015. – Т. 2, №4. – С. 72-75.
- 7 Отарбаев Н.К., Ковзель Е.Ф. Врожденные ошибки иммунитета: метод. реком. – Астана, 2014. – 25с.
- 8 Ochs H.D., Smith E., Puck J. *Primary Immunodeficiency Diseases.* – Oxford, 2013.–Vol. 96. –936 p.
- 9 Salzer U., Warnatz K., Peter H.H. Common variable immunodeficiency - an update // *Arthritis Res Ther.* – 2012. – Vol.14, №5.–P.223.
- 10 Ковзель Е.Ф., Розенсон Р.И., Моренко М.А. Первичные иммунодефициты в Республике Казахстан // *Вестник АГИУВ.* – Алматы, 2013. – С. 103-105.
- 11 Хайтов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология: национальное руководство. – М., 2009. – 636 с.
- 12 Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М., 2011. – 640 с.
- 13 László M., Luigi D. Notarangelo. Immunological and genetic bases of new primary immunodeficiencies // *Nature Reviews Immunology.* –2015. –Vol. 78. – P.851-861.
- 14 Шарапова С.О., Гурьянова И.Е., Романцова А.С. и др. Результаты генетического консультирования и пренатальной диагностики в семьях с X-сцепленными первичными иммунодефицитами у детей // *Достижения медицинской науки Белоруссии.* – 2012. – №17 – С.51-55.
- 15 Modell V. The impact of physician education and public awareness on early diagnosis of primary immunodeficiencies // *Immunol Res.* – 2007. – Vol.38.– P.43-47.

16 Modell F. Immunology today and new discoveries: building upon legacies of Dr. Robert A. Good // *Immunol Res.* – 2007.– Vol.38.– P.48-50.

17 Milner J.D., Holland S.M. The cup runneth over: lessons from the ever-expanding pool of primary immunodeficiency diseases // *Immunology.* – 2013. – Vol.13.–P.635-648.

18 Lucas M., Lee M., Lortan J. et al. Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years // *J Allergy Clin Immunol.* – 2011. – Vol.25, №4. – P.1354-1360.

19 Ballow M. Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency // *J Allergy Clin Immunol.* – 2002. – Vol.109, №4.– P.581-591.

20 Casanova J.L., Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy // *Science.* –2007. – Vol.317.– P.617-619.

21 Transplantation of hematopoietic stem cells and longterm survival for primary immunodeficiencies in Europe: entering a new century, do we do better? / Inborn Errors Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation; European Society for Immunodeficiency // *J Allergy Clin Immunol.* – 2010. – Vol. 126.– P.602.

22 Boztug K., Schmidt M. et al. Stem-cell gene therapy for the Wiskott–Aldrich syndrome // *N Engl J Med.* – 2010.–Vol.363, №20.– P.1918-1927.

23 Grunebaum E., Notarangelo L.D., Roifman CM. Bone marrow transplantation for severe combined immune deficiency// *JAMA.* – 2006. – Vol.295, №5. –P. 508-518.

24 Bharat S.T., Alizadehfar R., Desrosiers M. et al. Adult primary immune deficiency: what are we missing? // *Am J Med.* – 2012. – Vol.125, №8. – P.779-786.

25 Chapel H. Classification of primary immunodeficiency diseases by the International Union of Immunological Societies (IUIS) Expert Committee on Primary Immunodeficiency 2011 // *Clin Exp Immunol.* – 2012.– Vol. 168– P. 58-59.

26 Slabkaja E.V., Aksenova S.A., Barsukova V.V., Meshkova R.Ja. SozdanieregistrapervichnyhimmunodeficitovSmolenskojoblasti (Creating a registry of primary immunodeficiencies Smolensk region) // *Allergologijaiimmunologija v pediatrii.* – 2012. –№4. –P. 25-28.

27 Cunningham-Rundles C., Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients//*Clin Immunol.*– 1999. –Vol.92. – P.34-48.

28 Vorechovsky I., Zetterquist H., Paganelli R. et al. Family and linkage study of selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency//*Clin. Immunol. Immunopathol.*– 1995.–Vol.77. –P.185-192.

29 HammarströmL., VorechovskyI., WebsterD. Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID)//*Clin Exp Immunol.* – 2000. – Vol.120, №2.– P.225-231.

30 Park J.H., Resnick E.S., Cunningham-Rundles C. Perspectives on common variable immune deficiency // *Ann NY Acad Sci.*– 2011. – №1246. – P.41-49.

31 Kuijpers T.W., Bende R.J., Baars P.A. et al. CD20 deficiency in humans results in impaired T cell-independent antibody responses//J Clin Invest.–2010. – Vol.120. – P.214-222.

32 van Zelm M.C., Smet J., Adams B. et al. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency//J Clin Invest.–2010. –Vol.120. – P.1265-1274.

33 Pan-Hammarstrom Q., Salzer U., Du L. et al. Reexamining the role of TACI coding variants in common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency//Nat Genet.– 2007. –Vol.39. – P.429-430.

34 ШнайдерК.В., МоренкоМ.А., КовзельЕ.Ф. Современные принципы диагностики первичных иммунодефицитов // 59-я науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием АО «Медицинский Университет Астана. –Астана, 2017. –С. 176-177.

35 Chapel H., Lucas M., Lee M. et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes//Blood.– 2008. –Vol.112. – P.277-286.

36 Conley M.E., Dobbs A.K., Farmer D.M. et al. Primary B cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts//Annu. Rev. Immunol.– 2009. – Vol.27. – P.199-227.

37 Notarangelo L.D., Fischer A., Geha R.S. et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update//J. Allergy Clin. Immunol.– 2009. –Vol.124. – P.1161-1178.

38 Chapel H., Cunningham-Rundles C. Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions//Br. J. Haematol.– 2009. –Vol.145. – P.709-727.

39 Hutloff A., Dittrich A.M., Beier K.C. et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28//Nature.– 1999. – Vol.397. – P. 263-266.

40 Carter R.H., Fearon D.T. CD19: lowering the threshold for antigen receptor stimulation of B lymphocytes //Science.– 1992. –Vol.256. – P.105-107.

41 Kuijpers T.W., Bende R.J., Baars P.A. et al. CD20 deficiency in humans results in impaired T cell-independent antibody responses//J. Clin. Invest.– 2010. – Vol.120. – P.214-222.

42 Ward C., Lucas M., Piris J., Collier J., Chapel H. Abnormal liver function in common variable immunodeficiency disorders due to nodular regenerative hyperplasia //Clin Exp Immunol. – 2008. – Vol.153. – P.331-337.

43 Bateman E.A., Ayers L., Sadler R. et al. T cell phenotypes in patients with common variable immunodeficiency disorders: associations with clinical phenotypes in comparison with other groups with recurrent infections//Clin Exp Immunol. – 2012. – Vol.170, №2. – P.202-211.

44 Boileau J., Mouillot G., Gerard L. et al. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study //J Autoimmun. –2011. – Vol.36. – P.25-32.

45 Quinti I., Soresina A., Spadaro G. et al. Italian Primary Immunodeficiency Network. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with

common variable immunodeficiency //J Clin Immunol.– 2007. – Vol.27. – P.308-316.

46 Sève P., Bourdillon L., Sarrot-Reynauld F. et al. DEF-I Study Group. Autoimmune hemolytic anemia and common variable immunodeficiency: a case-control study of 18 patients // Medicine (Baltimore). –2008. – Vol.87. – P.177-184.

47 Ochtrop M.L., Goldacker S., May A.M. et al. T and B lymphocyte abnormalities in bone marrow biopsies of common variable immunodeficiency //Blood. – 2011. – Vol.118. – P.309-318.

48 Washington K., Stenzel T.T., Buckley R.H. et al. Gastrointestinal pathology in patients with common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia// Am J Surg Pathol.– 1996. – Vol.20. – P.1240-1252.

49 Kalha I., Sellin J.H. Common variable immunodeficiency and the gastrointestinal tract// Curr Gastroenterol Rep.– 2004. – Vol.6. – P.377-383.

50 Isgro A., Marziali M., Mezzaroma I. et al Bone marrow clonogenic capability, cytokine production, and thymic output in patients with common variable immunodeficiency //J Immunol.–2005. – Vol.174. – P.5074-5081.

51 Arumugakani G., Wood P.M., Carter C.R. Frequency of Treg cells is reduced in CVID patients with autoimmunity and splenomegaly and is associated with expanded CD21lo B lymphocytes //J Clin Immunol.– 2010. –Vol.30. – P.292-300.

52 Horn J., Manguiat A., Berglund L.J.et al. Decrease in phenotypic regulatory T cells in subsets of patients with common variable immunodeficiency //Clin Exp Immunol.– 2009. –Vol.156. – P.446-454.

53 Taubenheim N., von Hornung M., Durandy A. et al Defined blocks in terminal plasma cell differentiation of common variable immunodeficiency patients //J Immunol.– 2006. –Vol.175. – P.5498-5503.

54 Габдуллина Д.М., Усенова О.П., Моренко М.А., Ковзель Е.Ф., Шнайдер К.В. Врожденные ошибки иммунитета: современные подходы в диагностике и терапии// Валеология денсаулық - ауру – сауықтыру. – 2016. – №1. – С. 22-26.

55 Detková D., de Gracia J., Lopes-da-Silva S. et al. Common variable immunodeficiency: association between memory B cells and lung diseases //Chest.– 2007. – Vol.131. – P.1883-1889.

56 Foerster C., Voelxen N., Rakhmanov M. et al. B cell receptor-mediated calcium signaling is impaired in B lymphocytes of type Ia patients with common variable immunodeficiency //J Immunol.– 2010. – Vol.184. – P.7305-7313.

57 Goldacker S., Draeger R., Warnatz K. et al. Active vaccination in patients with common variable immunodeficiency (CVID)// Clin Immunol. – 2007. – Vol.124. – P.294-303.

58 Ko J., Radigan L., Cunningham-Rundles C. Immune competence and switched memory B cells in common variable immunodeficiency //Clin Immunol.– 2005. – Vol.116. – P.37-41.

59 Maródi L., Casanova J.L. Primary immunodeficiency diseases: the J Project // Lancet. – 2009. – Vol.373, №9682. – P.2179-2181.

60 Romberg N., Chamberlain N., Saadoun D. et al. CVID-associated TACI mutations affect autoreactive B cell selection and activation // *J Clin Invest.* – 2013. – Vol.123, №10. – P.4283-4293.

61 La Cava A. Common variable immunodeficiency: two mutations are better than one//*J Clin Invest.* – 2013. – Vol.123, №10.– P.4142-4143.

62 Cavaliere F.M., Milito C., Martini H. et al. Quantification of IgM and IgA anti-pneumococcal capsular polysaccharides by a new ELISA assay: a valuable diagnostic and prognostic tool for common variable immunodeficiency//*J Clin Immunol.* – 2013. – Vol.33, №4. – P.838-846.

63 Shapiro R.S. Improved IgG3 levels and reduced infection rate in a woman with CVID switched from intravenous to subcutaneous immunoglobulin therapy. //*Immunotherapy.* – 2012 – Vol.4, №12. – P.1835-1839.

64 Abolhassani H., Sagvand B.T., Shokuhfar T. et al. A review on guidelines for management and treatment of common variable immunodeficiency // *Expert Rev Clin Immunol.* – 2013. – Vol.9, №6. – P.561-574.

65 Chen K., Coonrod E.M., Kumánovics A. et al. Germline mutations in NFKB2 implicate the noncanonical NF- κ B pathway in the pathogenesis of common variable immunodeficiency//*Am J Hum Genet.* – 2013. – Vol.93, №5. – P.812-824.

66 Romberg N., Chamberlain N., Saadoun D. et al. CVID-associated TACI mutations affect autoreactive B cell selection and activation//*J Clin Invest.* – 2013. – Vol.123, №10. – P.4283-4293.

67 Alachkar H., Taubenheim N., Haeney M.R. et al. Memory switched B cell percentage and not serum immunoglobulin concentration is associated with clinical complications in children and adults with specific antibody deficiency and common variable immunodeficiency //*Clin Immunol.* – 2006. – Vol.120, №3. – P.310-308.

68 Viallard J.F., Blanco P., André M. et al. CD8+HLA-DR+ T lymphocytes are increased in common variable immunodeficiency patients with impaired memory B-cell differentiation//*Clin Immunol.* – 2006. – Vol.119, №1. – P.51-58.

69 Wehr C., Kivioja T., Schmitt C. et al. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency//*Blood.* – 2008. – Vol.111. – P.77-85.

70 Bacchelli C., Buckridge S., Thrasher A.J., Gaspar H.B. Translational mini-review series on immunodeficiency: molecular defects in common variable immunodeficiency//*Clin Exp Immunol.* – 2007. – Vol.149. – P.401-409.

71 Castigli E., Wilson S.A., Garibyan L. et al. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency//*Nat Genet.* – 2005. – Vol.37. – P.829-834.

72 Pan-Hammarström Q., Salzer U., Du L. et al. Reexamining the role of TACI coding variants in common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. //*Nat Genet.* – 2007. – Vol.39. – P.429-430.

73 Price A.L., Patterson N.J., Plenge R.M. et al. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies//*Nat Genet.* – 2006. – Vol.38. – P.904-909.

74 Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis // *Am J Hum Genet.* – 2007. – Vol. 81. – P.559-575.

75 Imielinski M., Baldassano R.N., Griffiths A. et al. Common variants at five new loci associated with early-onset inflammatory bowel disease// *Nat Genet.* – 2009. – Vol. 41. – P.1335-1340.

76 Zhang L., Radigan L., Salzer U. et al. Transmembrane activator and calcium-modulating cyclophilin ligand interactor mutations in common variable immunodeficiency: clinical and immunologic outcomes in heterozygotes// *J Allergy Clin Immunol.* – 2007. – Vol. 120. – P.1178-1185.

77 Mapping of multiple susceptibility variants within the MHC region for 7 immune-mediated diseases / International MHC and Autoimmunity Genetics Network// *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2009. – Vol.106. – P.18680-18685.

78 Sheikh-Hamad D. Mammalian stanniocalcin-1 activates mitochondrial antioxidant pathways: new paradigms for regulation of macrophages and endothelium// *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2010. – Vol.298. – P.248-254.

79 Foerster C., Voelxen M., Rakhmanov M. et al. B cell receptor-mediated calcium signaling is impaired in B lymphocytes of type Ia patients with common variable immunodeficiency// *J Immunol.* – 2010. – Vol. 184. – P.7305-7313.

80 Schaffer A.A., Salzer U., Hammarström L., Grimbacher B. Deconstructing common variable immunodeficiency by genetic analysis // *Curr Opin Genet Dev.* – 2007. – Vol.17. – P.201-212.

81 Orange J.S., Glessner J.T., Resnick E. et al. Genomewide association identifies diverse causes of common variable immunodeficiency // *Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol.127. – P. 1360-1367.

82 Warnatz K., Denz A., Dräger R. et al. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+) IgM(-) IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease // *Blood.* – 2002. – Vol. 99. – P. 1544-1551.

83 Berglund L.J., Wong S.W., Fulcher D.A. B-cell maturation defects in common variable immunodeficiency and association with clinical features // *Pathology.* – 2008. – Vol. 40. – P. 288-294.

84 Капустина А.С. Клинические проявления, иммунологические особенности и эффективность терапии первичных иммунодефицитов у взрослых: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.09. – М., 2011. – 131 с.

85 Luecha O. Primary Immunodeficiency Diseases; A 20 Years Experience in a Tertiary University Hospital at Ramathibodi // *J Allergy Clin Immunol.* – 2012. – Vol. 129, №2. – P. 158.

86 Колхира П.В. Доказательная аллергология-иммунология – М.: Практическая медицина, 2010. – 524 с.

87 Моисеева Т.Н. Врожденные ошибки иммунитета. Результаты проспективного наблюдения: автореф. ... канд. мед. наук: 14.00.36. – Челябинск, 2009. – 22 с.

88Усенова О.П., Габдуллина Д.М., Моренко М.А., Ковзель Е.Ф., Шнайдер К.В. Первичный иммунодефицит: общая варибельная иммунная недостаточность // Валеология денсаулық - ауру –сауықтыру. – 2016. – №1. – С. 42-47.

89Бочарова К.А. Подходы к ведению больных с первичными иммунодефицитными состояниями // Научные ведомости. Серия медицина. Фармация. – 2011. – Т. 13, №4. – С. 203-207.

90Modell V., Gee B., Lewis D.B. et al. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI)-diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation // Immunol Res. – 2011. –Vol. 51, №1. – P. 61-70.

91Picard C., Al-Herz W., Bousfiha A. et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency // Front Immunol. – 2015. – Vol. 5. – P.162.

92Cunningham-Rundles. Key aspects for successful immunoglobulin therapy of primary immunodeficiencies // Clinical and Experimental Immunology. – 2011. – Vol.164, №2. – P. 16-19.

93Hernandez-Trujillo V. et al. Validity of Primary Immunodeficiency Disease Diagnoses in United States Medicaid Data // J Clin Immunol. – 2015. –Vol.35. – P. 566-572.

94Lankisch P. et al. The Duesseldorf Warning Signs for Primary Immunodeficiency: Is it Time to Change the Rules? // J Clin Immunol. – 2015. – Vol.35, №3. – P. 273-279.

95Lehman H., Hernandez-Trujillo V., Ballow M. Diagnosing Primary Immunodeficiency: A Practical Approach for the Non-immunologist // Curr Med Res Opin.– 2015.– Vol. 31, №4. – P. 697-706.

96ЛюбимоваН.Е., ОстанковаЮ.В., СеменовА.В.и др.ОпределениезначенийнормыТРЕСиКРЕСвпериферическойкровиноворожде нных// Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – С. 238-239.

97Dorsey M.J., Puck J.M. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in the United States: Lessons Learned// Immunol Allergy Clin North Am. – 2018.– Vol. 42, №3. – P.1-11.

98Bonilla F.A.1. Intravenous and subcutaneous immunoglobulin G replacement therapy // Allergy Asthma Proc. – 2016. –Vol. 37, №6.– P.426-431.

99Mallick R., Jolles S., Kanegane H. et al. Treatment Satisfaction with Subcutaneous Immunoglobulin Replacement Therapy in Patients with Primary Immunodeficiency: A Pooled Analysis of Six Hizentra® Studies // J Clin Immunol. – 2018.– Vol. 53, №6.– P.126-131.

100 Więsik-Szewczyk E., Jahnz-Różyk K. A case report of pregnancy in a patient with common variable immunodeficiency emphasizing the need for personalized immunoglobulin replacement// Medicine (Baltimore). – 2018.–Vol. 97, №44.– P.128-134.

- 101 Guffroy A., Gies V., Martin M., Korganow A.S. Primary immunodeficiency and autoimmunity // *Rev Med Interne.* – 2017.– Vol 38, №6.– P.383-392.
- 102 Kobrynski L.J.1. Primary Immunodeficiency Disorders // *Immunol Allergy Clin North Am.* – 2019. – Vol. 39, №1.– P.2-20.
- 103 Bousfiha A.A., Jeddane L., Ailal F. et al. A phenotypic approach for IUIS PID classification and diagnosis: guidelines for clinicians at the bedside // *J Clin Immunol.* – 2013. – Vol. 33, №5. – P.78-87.
- 104 Brown L., Xu-Bayford J., Allwood Z. et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening // *Blood.* – 2011. – Vol. 117, №4.– P.3243-3246.
- 105 Gaspar H.B., Hammarström L., Mahlaoui N., Borte M., Borte S. The case for mandatory newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID)// *J Clin Immunol.* – 2014. – Vol. 34, №5.– P.393-397.
- 106 Parvaneh N., Casanova J.L., Notarangelo L.D., Conley M.E. Primary immunodeficiencies: a rapidly evolving story // *J Allergy Clin Immunol.* – 2013.– Vol. 131, №3.–P.314-323.
- 107 18th WHO Model List of Essential Medicines – 2013 / World Health Organization // <http://apps.who.int/iris/bitstream/>. 07.08.2014.
- 108 4th WHO Model List of Essential Medicines for Children - 2013 / World Health Organization // <http://apps.who.int/iris/bitstream/>. 07.08.2014.
- 109 Roifman C.M., Somech R., Grunebaum E. Matched unrelated bone marrow transplant for T+ combined immunodeficiency // *Bone Marrow Transplantation.* – 2000. – Vol. 41. – P.947-952.
- 110 Lang P.O., Govind S., Dram M., Aspinall R. Comparison of manual and automated DNA purification for measuring TREC in dried blood spot (DBS) samples with qPCR // *Journal of Immunological Methods.* – 2012. – Vol. 384, №1-2. –P.118-127.
- 111 Ou X., Zhao H., Sun H., Yang Z., Xie B., Shi Y., Wu X. Detection and quantification of the age-related sjTREC decline in human peripheral blood // *International Journal of Legal Medicine.* – 2011. – Vol. 125. – P.603-608.
- 112 Ou X.L., Gao J., Wang H., Wang H.S., Lu H.L., Sun H.Y. Predicting human age with bloodstains by TREC quantification // *PLoS ONE.* – 2012. – Vol. 7, №8. – P. 42412.
- 113 Донецкова А.Д.Новый подход к диагностики Т-лимфопоза с помощью определения Т-рецепторных эксцизионных колец в эксперименте и клинике: автореф. ... док. мед.наук: 03.03.03. – М., 2013. – 48 с.
- 114 Донецкова А.Д., Флоренко А.Л., Трошина В.В. и др.Тимусные эксцизионные кольца в лимфоцитах периферической крови, возрастная динамика и влияние тимэктомии // *Иммунология.* – 2010. – Т. 31, №6. – С. 293-299.
- 115 Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Т-клетки – недавние эмигранты из тимуса // *Иммунология.* – 2012. – Т.33, №6. – С. 326-334.

116 Блинова Е.А. Количество ТREC в периферических Т-лимфоцитах человека в норме и при иммунопатологических состояниях: автореф. канд. биол. наук: 14.03.09. – Новосибирск, 2012. – 19 с.

117 Шарапова С.О., Гурьянова И.Е., Романцова А.С. и др. Результаты генетического консультирования и пренатальной диагностики в семьях с X-сцепленными первичными иммунодефицитами у детей // Достижения медицинской науки Белоруссии. – 2012. – №17. – С.51-55.

118 Somech R.T. cellreceptorexcisioncirclesinprimaryimmunodeficienciesandotherT-cellimmunedisorders // Curr Opin Allergy Clin Immunol. – 2011. – Vol. 11, №6. – P.517-524.

119 Chan K., Puck J. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency // J Allergy Clin Immunol. – 2005. – Vol. 15. – P. 391-398.

120 Riberio R.M., Perelson A.S. Determining thymic output quantitatively: using models to interpret experimental T-cell receptor excision circle (TREC) data // Immunol Rev. – 2007. – Vol. 216. – P.21-34.

121 Saitoh A., Singh K.K., Sandall S. et al. Association of CD4+ T-lymphocyte counts and new thymic emigrants in HIV-infected children during successful highly active antiretroviral therapy // J Allergy Clin Immunol. – 2006. – Vol. 117. – P.909-915.

122 Baker M.W., Grossman W.J., Laessig R.H., Hoffman G.L., Brokopp C.D., Kurtycz D.F., et al. Development of a routine newborn screening protocol for severe combined immunodeficiency // J Allergy Clin Immunol. – 2009. – Vol. 124. – P.522-527.

123 McGhee S.A., Stiehm E.R., Cowan M. et al. Two-tiered universal newborn screening strategy for severe combined immunodeficiency // Mol Genet Metab. – 2009. – Vol. 86. – P.427-430.

124 Morinishi Y., Imai K., Nakagawa N. et al. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards // J Pediatr. – 2009. – Vol. 155. – P. 829-833.

125 Somech R., Lev A., Simon A.J., Korn D., Garty B.Z. et al. Newborn screening for severe T and B cell immunodeficiency in Israel: a pilot study // Isr Med Assoc J. – 2013. – Vol. 15, №8. – P.404-409.

126 Douek D.C., Vescio R.A. et al Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution // Lancet. – 2000. – Vol. 355. – P.1875-1881.

127 Sairafi D., Mattsson J., Uhlin M., Uzunel M. Thymic function after allogeneic stem cell transplantation is dependent on graft source and predictive of long term survival // Clin Immunol. – 2012. – Vol. 142, №3. – P.343-350.

128 Borghans J.A. et al Early determinants of long-term T-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation for severe combined immunodeficiency // Blood. – 2006. – Vol. 108, №2. – P.763-769.

- 129 Seymour B. Primary antibody deficiency and diagnostic delay // *J Clin Pathol.* – 2005. – Vol. 58. – P.546-547.
- 130 Conley M.E., Dobbs A.K., Farmer D.M. et al. Primary B cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts // *Annu Rev Immunol.* – 2009. – Vol. 27. – P.199-227.
- 131 Buckley RH. B-cell function in severe combined immunodeficiency after stem cell or gene therapy: a review // *J Allergy Clin Immunol.* – 2010. – Vol. 125. – P.790-797.
- 132 Berger M., Murphy E., Riley P., Bergman G.E. A cohort of French pediatric patients with primary immunodeficiencies: are patient preferences regarding replacement immunotherapy fulfilled in real-life conditions?// *Patient Prefer Adherence.* – 2017. – Vol.11. – P.1171-1180.
- 133 Zetterström, R.H. Newborn screening for primary immunodeficiencies using TREC and KREC in Sweden: A 2-year pilot study. *J Clin Immunol.* 2017; 37(1): 51–60.
- 134 Chong-Neto, H.J., Radwan, N., Condino-Neto, A. Newborn screening for inborn errors of immunity: The status worldwide. *World Allergy Organ J.* 2024; 17(2): 100781.
- 135 Barbaro, M. Universal newborn screening for severe primary immunodeficiency diseases in Sweden. *J Clin Immunol.* 2017; 37(1): 51–60.
- 136 Giżewska, M., Kalwak, K., Sobczyńska-Tomaszewska, A. Newborn screening for SCID and other T-cell lymphopenias in Poland. *J Clin Immunol.* 2020; 40(6): 855–865.
- 137 Hammarström, L., Smith, C.I.E. Progress in screening for primary immunodeficiencies. *Clin Immunol.* 2018; 190: 10–17.
- 138 Korsunskiy, I.M., et al. TREC/KREC as universal markers in neonatal screening of primary immunodeficiency. *Clin Immunol J.* 2020; 12(3): 114–122.
- 139 Condino-Neto, A., et al. Advances in newborn screening for inborn errors of immunity in Latin America. *J Clin Immunol.* 2024; 44(2): 321–330.
- 140 El-Sayed, Z.A., Radwan, N. Neonatal screening for primary immunodeficiencies: A Middle East perspective. *Front Immunol.* 2020; 11: 592236.
- 141 Ludvigsson, J.F., Hammarström, L. Newborn screening for primary immunodeficiency diseases: The past, the present and the future. *Int J Neonatal Screen.* 2017; 3(3): 19.
- 142 Amatuni, G.S., Currier, R.J., Church, J.A. Newborn screening for SCID: 10 years of experience in California. *Pediatrics.* 2019; 143(2): e20182300.
- 143 Shinwari, Z., et al. Pilot newborn screening for severe combined immunodeficiency in Pakistan. *J Pediatr Infect Dis.* 2021; 16(4): 122–129.

Приложение А

Анкета участника исследования «Оценка скринингового исследования количества TREC/KREC у новорожденных из группы риска»

ФИО матери _____

ФИО ребенка _____

Дата рождения _____

1) Домашний адрес _____

2) Переезжали с тех пор, как наступила беременность?

а) да _____ б) нет

3) Состоите ли Вы на «Д» учете по каким-либо заболеваниям?

а) да _____ б) нет

4) Если состоите на «Д» учете, то укажите с какими заболеваниями? _____

5) Принимает постоянно лекарства? _____

6) Есть ли хронические заболевания у отца ребенка и ранние смерти у родственников?

а) да _____ б) нет

7) Есть ли ранние смерти у родственников матери и отца ребенка?

а) да _____ б) нет

8) Национальность у матери и отца ребенка. _____

9) Какова беременность по счету: Беременности включая аборты и выкидыши, начиная с первой (вес, срок, исход)

1. _____

2. _____

3. _____

10) Если есть дети от предыдущих беременностей, состоят ли они на «Д» учете с какими либо заболеваниями?

а) да _____ б) нет

11) Настоящая беременность физиологическая /обычная?

Приложение Б

Выписка из протокола



«АСТАНА МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КеАҚ Локальды Биоэтикалық комитет

Решение ЛКБ НАО МУА №8

Заседание № 11

Дата 01.07.2024 г.

Название протокола: «Оценка скринингового исследования количества TREC/KREC у новорожденных из группы риска»					
Основной исследователь:		Алтын Ақжүніс Балапанқызы, магистрант 1 года обучения по специальности «Медицина» НАО «Медицинский Университет Астана»			
		НАО «Медицинский университет Астана»			
Рассмотренные элементы		Приложены ✓	Не приложены		
Первичное рассмотрение					
Решение:		Одобрено с рекомендациями			
№.	Голосование членов ЛЭК	решение			
		О	Рек	ПР	НР
1	Рахметова Венера Саметовна		✓		
2	Камалбекова Гульнара Маратовна		✓		
3	Жусупова Гульзира Кеңжеевна		✓		
4	Дербисалина Гульмира Ажмадиновна		✓		
5	Фурсов Роман Александрович		✓		
6	Мукатова Ирина Юрьевна		✓		
7	Базарова Анна Викентьевна		✓		
8	Сливкина Наталья Владимировна		✓		
9	Жусупова Гульнара Даргеровна		✓		
10	Базарова Гульмира Сеиловна		✓		
11	Курмалаев Азамат Сайнович		✓		
12	Долгов Алексей Алексеевич		✓		
13	Шукирбекова Алма Боранбековна		✓		
14	Муддахметов Мейрам Сейтжанович		✓		
15	Бураев Галымжан Бауыржанович		✓		
16	Шаранатов Ержан Ақділдаұлы		✓		
17	Зулхажы Айгул Зулхажыевна		✓		
18	Мажитова Жанна Сабитбековна		✓		
19	Байғалиева Бахыт Мадениетовна		✓		

Примечание: О - Одобрено; Рек - Одобрено с рекомендациями; ПР - Повторное рассмотрение; НР - Не рекомендовано

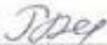
Обсуждение:

- Не представлен статистически обоснованный объем исследовательского материала;
- В протоколе п. 7 указано, что уязвимых групп нет, тогда как в аннотации и протоколе п. 1 указано взятие и анализ пупочной крови у новорожденных детей, которые относятся к уязвимой группе.

Принятое решение:

Одобрить проведение исследования с рекомендациями внести в рабочий порядок изменения и дополнения в материалы исследования.

Подпись:


Председатель ЛКБ НАО МУА
д.м.н., проф. Рахметова В.С.


Секретарь ЛКБ НАО МУА
Әуезханова Г.Н.

Приложение В

Информированное добровольное согласие
(заполняют все родители, участвующие в научном проекте)

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА УЧАСТИЕ В ИССЛЕДОВАНИИ

Родитель или законный представитель (Ф.И.О.) _____

Организация-спонсор: Комитет науки МНВО РК

Номер протокола _____ исследования: _____ (код)

Исследовательский центр: ТОО «Национальный центр биотехнологии»,
Корпоративный фонд «УМС», Перинатальный центр №1, №2,3, Городская
детская больница №1, НАО «Медицинский университет Астана».

Название исследования: в рамках проекта «Генетический скрининг
новорожденных на иммунодефицитные состояния в Казахстане: пилотное
исследование».

Дата последней экспертизы, проведенного заседания ЛЭК: №12 от 22.11.2022

Дата одобрения последних поправок к протоколу исследования: _____

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ УЧАСТНИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы приглашаем Вас к участию в научном исследовании. Мы приглашаем именно Вас, потому что нам необходимо оценить эффективность внедрения скрининга новорожденных на врожденные дефекты иммунной системы. Исследование финансируется в рамках ПФ МОН РК. Мы хотим, чтобы Вы знали, что:

Во-первых,

- Участие в этом исследовании является добровольным. Вы можете отказаться от участия в исследовании или выйти из него в любое время. В любом случае вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.

- Возможно, Ваше участие в исследовании не принесёт Вам дополнительной пользы. Однако в результате исследования мы можем получить знания, которые в будущем принесут пользу другим людям.

Во-вторых,

У некоторых людей могут быть личные, религиозные или другие взгляды, которые затрудняют участие в исследовании. Если у Вас есть такие взгляды, пожалуйста, обсудите их со своим врачом или другими специалистами до того, как согласиться на участие.

Прежде чем Вы дадите согласие на участие в исследовании, не спеша, обсудите всё с любым сотрудником данной клиники или со своими друзьями, родственниками, лечащим врачом или другими специалистами.

1. НАЗВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ: «Генетический скрининг новорожденных на иммунодефицитные состояния в Казахстане: пилотное исследование».

2. **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** необходимо оценить эффективность внедрения скрининга новорожденных на врожденные дефекты иммунной системы с Республике

3. **ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:** Вам будут проведены следующие методы исследования:

- Опросники: ответить на вопросы анкеты для родителей новорожденного или ребенка на казахском и русском языках
- Генетические методы исследования (Будет производиться забор из пяточки новорожденного и ребенка до 3 месяцев жизни и из пальчика у ребенка старше 3 месяцев жизни)

4. **УСЛОВИЯ ОПЛАТЫ/ВОЗМОЖНЫЕ РАСХОДЫ:**

- За проведение всех диагностических процедур входящих в программу исследования Вы оплачивать не будете.

- Оплата Вам как участнику исследования не предусмотрена.

5. **ПРЕДСКАЗУЕМЫЕ РИСКИ И НЕУДОБСТВА:** Отсутствуют.

6. **ОЖИДАЕМАЯ ПОЛЬЗА:**

Участие в данном исследовании дает возможность Вам получить информацию, которая поможет внедрить скрининговый проект для раннего выявления врожденных дефектов иммунной системы для всех новорожденных Республики. Что снизит младенческую и детскую смертность и инвалидность.

7. **АЛЬТЕРНАТИВЫ К УЧАСТИЮ В ИССЛЕДОВАНИИ:** В любой момент участник может отказаться от участия в исследовании, без последствий для участника.

8. **ПОЛОЖЕНИЕ О ПРАВАХ УЧАСТНИКОВ:** Участие в данном исследовании является добровольным. Вы можете отказаться от участия в исследовании или прекратить участие в любое время. В любом случае Вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.

9. **КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТЬ:** Информация о Вашем участии в исследовании является конфиденциальной. Мы гарантируем, что Ваше имя не будет указано при публикации результатов исследования. Информация, полученная в результате этого исследования (материалы исследования), считается конфиденциальной и будет храниться в надлежащих условиях, предусмотренных законом. Однако, эти материалы исследования и Ваша личная медицинская документация могут быть доступны для проверок официальными инстанциями (МЗ РК и МОН РК), агентством или компанией, спонсирующей это исследование, людьми, которые уполномочены контролировать исследование или этической комиссией организации в рамках действующих законов или инструкций.

10. **КОМПЕНСАЦИЯ/ ЛЕЧЕНИЕ:** Заполнение анкеты и взятие капиллярной крови потенциально не может привести вреда.

11. **ДОБРОВОЛЬНОЕ УЧАСТИЕ:** Участие в данном исследовании является добровольным. Вы можете отказаться от участия в исследовании или

прекратить участие в любое время. В любом случае Вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.

12.ЗАВЕРШЕНИЕ УЧАСТИЯ: Вы можете прекратить участие в исследовании в любое время без каких-либо отрицательных последствий для Вас. Отказ от участия не отразится никоим образом на отношениях к Вам Вашего врача и медицинских работников и Вам не будет отказано в медицинских услугах, на которые Вы имеете право.

13. КОНТАКТНЫЕ ЛИЦА:

Если у Вас возникают проблемы или вопросы, касающиеся данного исследования, Ваших прав как участника исследования или вреда от исследования, обратитесь к:

-заведующей программой клинической иммунологии, аллергологии Ковель Елене Федоровне;

-заведующей кафедрой детских болезней с курсами аллергологии, иммунологии, гематологии и эндокринологии Моренко Марине Алексеевне;

Вы можете также позвонить тому (той), кто будет представлять Ваши интересы в том, что касается исследования.