

УДК 616.155.32-053.31-07(477)
DOI 10.11603/1681-2786.2020.3.11615

О. Р. БОЯРЧУК¹, Н. М. ЯРЕМА¹, М. І. КІНАШ¹, Т. В. ГАРІЯН¹, Л. А. ВОЛЯНСЬКА¹,
О. М. ШУЛЬГАЙ¹, І. Б. ЧОРНОМИДЗ¹, У. М. МУДРИК¹, Г. В. МАКУХ²

НЕОНАТАЛЬНИЙ СКРИНІНГ Т- І В-ЛІМФОПЕНІЙ

¹Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
м. Тернопіль, Україна

²ДУ «Інститут спадкової патології Національної академії медичних наук України», м. Львів, Україна

Мета: визначити можливості проведення неонатального скринінгу Т- і В-лімфопеній в Україні для діагностики тяжких комбінованих імунodefіцитів (ТКІД).

Матеріали і методи. Проведено пошук і аналіз доступних літературних джерел бази PubMed, використовуючи комбінацію ключових слів «рання діагностика», «неонатальний скринінг», «TREC», «KREC», «первинні імунodefіцити», «ТКІД», «Т- і В-лімфопенії».

Результати. Виявлення тяжких комбінованих імунodefіцитів і дефектів антитілоутворення ґрунтується на методиці з використанням молекулярно-генетичних методів кількісного виявлення TREC (T-cell receptor excision circle), які є побічним продуктом Т-клітинної диференціації в тимусі, що визначають Т-лімфопенію, та KREC (kappa-deleting recombination excision circle), які утворюються в процесі дозрівання В-клітин у кістковому мозку та визначають В-лімфопенію.

Неонатальний скринінг за допомогою аналізу TREC/KREC дасть можливість раннього виявлення ТКІД та забезпечить проведення вчасної трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК) до приєднання тяжких інфекцій, які значно погіршують прогноз радикального лікування. Окрім того, неонатальний скринінг дозволить встановити реальну частоту поширеності ТКІД в Україні, а також дасть можливість діагностувати й інші захворювання, які перебігають з тяжкою лімфопенією.

Висновки. Аналіз літературних даних вказує на доцільність проведення пілотного дослідження з неонатального скринінгу первинних імунodefіцитів методом TRECs і KRECs визначення Т- і В-лімфопеній, який дозволить обрати найоптимальніший метод, визначити межі TRECs і KRECs для діагностики лімфопеній і ТКІД, а також економічну доцільність впровадження методу в Україні.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: неонатальний скринінг; тяжкі комбіновані імунodefіцити; TREC; KREC; Т-лімфопенія.

Первинні імунodefіцити (ПІД) – гетерогенна група уроджених захворювань, при яких уражаються різні ланки імунної системи, що призводить до порушення її нормального функціонування [3]. Серед ПІД виділяють тяжкі комбіновані імунodefіцити (ТКІД), які характеризуються вираженою Т-лімфопенією чи Т- і В-клітинними лімфопеніями. Діагностика ПІД викликає труднощі не тільки в лікарів первинної ланки, а й у лікарів-спеціалістів, що зумовлено як слабкою специфічністю проявів ПІД, так і низькою обізнаністю лікарів щодо ПІД [2, 5]. Рання діагностика є запорукою кращої якості життя дітей з ПІД, а у випадках ТКІД – дає шанс на повноцінне життя.

Пошук методів ранньої діагностики ПІД, у тому числі ТКІД, завжди був у центрі уваги науковців [6, 9]. За останні роки в ряді країн світу впроваджено програми неонатального скринінгу Т-лімфопеній чи Т- і В-лімфопеній для діагностики ТКІД та інших ПІД, загрозливих для життя [8].

Мета роботи: визначити можливості проведення неонатального скринінгу Т- і В-лімфопеній в Україні для діагностики ТКІД.

Матеріали і методи. Проведено пошук і аналіз доступних літературних джерел бази PubMed, використовуючи комбінацію ключових слів «рання діагностика», «неонатальний скринінг», «TREC», «KREC», «первинні імунodefіцити», «ТКІД», «Т- і В-лімфопенії».

Результати дослідження та їх обговорення. Популяційні скринінги новонароджених вперше були запроваджені ще у 1961 р. Вони спрямовані на виявлення тяжких, життєвоzagрозливих або інвалідизуючих захворювань, які мають ефективне лікування, вчасна діагностика яких і адекватна допомога можуть запобігти тяжким ускладненням та значно покращити якість життя [7]. Діти з ТКІД народжуються без ознак захворювання, проте швидко приєднання тяжких інфекцій в перші місяці після народження часто призводить до летальних наслідків або значно погіршує прогноз подальшого лікування [3].

В Україні на сьогодні неонатальний скринінг проводять для 4 нозологій (фенілкетонурії, уродженого гіпотиреозу, муковісцидозу, адреногенітального синдрому), тоді як в інших країнах світу

© О. Р. Боярчук, Н. М. Ярема, М. І. Кінаш, Т. В. Гаріян, Л. А. Волянська, О. М. Шутьгай, І. Б. Черноמידз,
У. М. Мудрик, Г. В. Макух, 2020

скринінг новонароджених охоплює від 8 до 60 захворювань. Основні принципи ранньої діагностики захворювань з використанням неонатального скринінгу були сформульовані ще у 1968 р. Wilson і Jungner [7]. Окрім того, тести для неонатального скринінгу повинні бути як височутливими, так і високоспецифічними та доступними [4]. Для більшості захворювань, для яких на сьогодні проводять неонатальний скринінг, використовують тандемну мас-спектрометрію.

Виявлення ТКІД та дефектів антитілоутворення ґрунтується на кардинально іншій методиці з використанням молекулярно-генетичних методів кількісного виявлення TREC (T-cell receptor excision circle), які є побічним продуктом Т-клітинної диференціації в тимусі, що визначають Т-лімфопенію, та KREC (kappa-deleting recombination excision circle), які утворюються в процесі дозрівання В-клітин у кістковому мозку та визначають В-лімфопенію [8].

На сьогодні ТКІД не є вироком, оскільки при ранній діагностиці та використанні певних застережливих заходів запобігання інфікуванню дитини застосовують такі радикальні методи лікування, а саме: алогенну трансплантацію гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК), ензімозамісну терапію ТКІД з дефіцитом аденозиндезамінази (ADA), генну терапію. Ефективність такого лікування є досить високою, і виживання дітей становить більше 90 % [8]. Запобігання розвитку інфекцій до проведення радикального лікування є вирішальним для дітей з ТКІД, що зумовлює важливість як швидкого тестування, так і зворотної відповіді при позитивному результаті TREC та якнайшвидшої діагностики ТКІД [7, 8]. Сьогодні в Україні розвивається алогенна ТГСК у дітей з ТКІД. Почали проводити ТГСК від сумісного неродинного донора, що значно розширює перспективи лікування дітей з ТКІД саме в Україні.

Метод визначення TREC дозволяє діагностувати ТКІД, які перебігають з Т-лімфопенією. На сьогодні нараховують близько 20 таких захворювань. У США, окремих провінціях Канади реалізується програма неонатального скринінгу ТКІД методом TREC, тоді як у Швеції, Іспанії (Севілья), Ірані використовували визначення Т- і В-лімфопеній методом TREC/KREC. Перевага комбінованого аналізу TREC/KREC полягає в ідентифікації людей з різними формами ПІД, які можуть бути пропущені аналізом TREC, включаючи синдром Ніймеген та агаммаглобулінемію, інші тяжкі дефекти антитілоутворення [7], що особливо актуально для України, де висока поширеність слов'янської мутації синдрому Ніймеген та агаммаглобулінемії. Окрім того, використання TREC скринінгу не дозволяє діагностувати і певні види ТКІД, зокрема, пізній початок

дефіциту ADA, дефіцит Zap70, дефіцит MHC Class II, порушення функції Т-лімфоцитів. Тому кожна країна обирає метод, який найбільше відповідає її можливостям та потребам. Зокрема, пілотне дослідження неонатального скринінгу ПІД в Італії включало визначення TREC і ADA.

Частота близькоспоріднених шлюбів і, відповідно, частота ТКІД, які здебільшого передаються за рецесивним типом, в Україні не є високою порівняно з іншими країнами світу, тому виглядає доцільнішим використання TREC/KREC методу.

Проведення скринінгу дасть можливість встановити частоту поширеності ТКІД в Україні, адже, як показали дослідження, проведені в інших країнах, поширеність ТКІД є значно вищою, ніж показували статистичні дані до проведення скринінгу, оскільки значна частка дітей помирає на першому році від інфекційних ускладнень без встановленого діагнозу ПІД [7, 8].

Проведене нами ретроспективне дослідження 738 новонароджених стаціонару показало високий відсоток лімфопеній (24,6 %), серед яких в одному випадку виявлено ПІД. Більшість пацієнтів із лімфопеніями мали прояви інфекційного синдрому [1].

Пілотне дослідження неонатального скринінгу Т- і В-лімфопеній дасть можливість розробити протокол виявлення первинних імунodefіцитів методом TREC і KREC та визначення подальшої тактики задля запобігання розвитку інфекцій, лікування та спостереження за такими дітьми. Необхідне обґрунтування клінічної та економічної доцільності впровадження неонатального скринінгу тяжких імунodefіцитів в Україні.

Висновки

Аналіз літературних даних вказує на доцільність проведення пілотного дослідження з неонатального скринінгу первинних імунodefіцитів методом TREC і KREC та визначення Т- і В-лімфопеній, який дозволить обрати найоптимальніший метод, визначити межі TREC і KREC для діагностики лімфопеній і ТКІД, а також економічну доцільність впровадження методу в Україні.

Перспективи подальших досліджень. Визначення оптимального методу проведення скринінгу ТКІД, референтних значень TREC і KREC, а також економічної доцільності його впровадження дозволить створити рекомендації щодо реалізації програми скринінгу ТКІД та інших імунodefіцитів у поточному скринінгу уроджених захворювань у новонароджених дітей в Україні.

Подяки. Дослідження було підтримане Міністерством охорони здоров'я України (науковий проект «Пілотне дослідження з неонатального скринінгу первинних імунodefіцитів методом TREC та KREC визначення Т- та В-лімфопеній»).

Список літератури

1. Боярчук О. Р. Клініко-патогенетична характеристика і значення цитопеній (лейко-, лімфо-, нейтропеній) у новонароджених дітей / О. Р. Боярчук, В. А. Міщанчук // Сучасна педіатрія. Україна. – 2019. – № 6. – С. 55–60.
2. Вопросы совершенствования знаний о первичных иммунодефицитах / М. И. Кинаш, О. Р. Боярчук, Т. В. Гариян, Л. И. Добровольская // Вопросы практической педиатрии. – 2019. – Т. 14, № 6. – С. 55–62.
3. Діагностичні алгоритми первинних імунодефіцитів : навч.-метод. посіб. / О. Р. Боярчук, А. П. Волоха, Л. А. Волянська та ін. – Тернопіль : ТНМУ, 2019. – 68 с.
4. An evaluation of the TREC assay with regard to the integration of SCID screening into the Dutch newborn screening program / M. Blom, I. Pico-Knijnenburg, Sijne-van Veen [et al.] // Clin. Immunol. – 2017. – No. 180. – P. 106–110.
5. Evaluation of awareness about primary immunodeficiencies among physicians before and after implementation of the educational program: A longitudinal study / T. Hariyan, M. Kinash, R. Kovalenko, O. Boyarchuk // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15 (5). – e0233342.
6. Global overview of primary immunodeficiencies: a report from Jeffrey Modell Centers worldwide focused on diagnosis, treatment, and discovery / V. Modell, M. Knaus, F. Modell [et al.] // Immunol. Res. – 2014. – No. 60 (1). – P. 132–144.
7. King J. Newborn screening for primary immunodeficiency diseases: history, current and future practice / J. King, L. Hammarström // J. Clin. Immunol. – 2018. – No. 38. – P. 56–66.
8. Puck J. M. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia / J. M. Puck // Immunol. Rev. – 2019. – No. 287 (1). – P. 241–252.
9. The impact of combining educational program with the improving of infrastructure to diagnose on early detection of primary immunodeficiencies in children / O. Boyarchuk, A. Volokha, T. Hariyan [et al.] // Immunol. Res. – 2019. – Vol. 67, No. 4–5. – P. 390–397.

References

1. Boyarchuk, O.R., & Mishchanchuk, V.A. (2019). Kliniko-patohenetychna kharakterystyka i znachennia tsytopenii (leiko-, limfo-, neitropenii) u novonarodzhenykh ditei [Clinical and pathophysiological characteristics and significance of newborn cytopenia (neutropenia, leukopenia and lymphopenia)]. *Suchasna pediatriia. Ukraina – Modern Pediatrics. Ukraine*, 6 (102), 5560 [in Ukrainian].
2. Kinash, M.I., Boyarchuk, O.R., Hariyan, T.V., & Dobrovolska, L.I. (2019). Voprosy sovershenstvovaniya znaniy o pervichnykh immunodefitsitakh [Issues of improving knowledge about primary immunodeficiency]. *Vopr. prakt. pediatri. – Clinical Practice in Pediatrics*, 14 (6), 55-62 [in Russian].
3. Boliarchuk, O.R., Volokha, A.P., & Volianska, L.A. (2019). *Diahnostychni alhorytmy pervynnykh imunodefitsytiv [Diagnostic algorithms of primary immunodeficiency]*. Ternopil: TNMU [in Ukrainian].
4. Blom, M., Pico-Knijnenburg, I., Sijne-van Veen, M., Boelen, A., Bredius, R., van der Burg, M., & Schielen, P. (2017). An evaluation of the TREC assay with regard to the integration of SCID screening into the Dutch newborn screening program. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 180, 106-110.
5. Hariyan, T., Kinash, M., Kovalenko, R., & Boyarchuk, O. (2020). Evaluation of awareness about primary immunodeficiencies among physicians before and after implementation of the educational program: A longitudinal study. *PLoS ONE* 15 (5), e0233342.
6. Modell, V., Knaus, M., Modell, F., Roifman, C., Orange, J., & Notarangelo, L.D. (2014). Global overview of primary immunodeficiencies: a report from Jeffrey Modell Centers worldwide focused on diagnosis, treatment, and discovery. *Immunologic Research*, 60 (1), 132-144.
7. King, J.R., & Hammarström, L. (2018). Newborn screening for primary immunodeficiency diseases: History, current and future practice. *Journal of Clinical Immunology*, 38 (1), 56-66.
8. Puck, J.M. (2019). Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia. *Immunological Reviews*, 287 (1), 241-252.
9. Boyarchuk, O., Volokha, A., Hariyan, T., Kinash, M., Volyanska, L., Birchenko, I., Habor, H., & Korda, M. (2019). The impact of combining educational program with the improving of infrastructure to diagnose on early detection of primary immunodeficiencies in children. *Immunologic Research*, 67 (4-5), 390-397.

NEWBORN SCREENING FOR T AND B CELL LYMPHOPENIA

O. R. Boyarchuk¹, N. M. Yarema¹, M. I. Kinash¹, T. V. Hariyan¹, L. A. Volyanska¹, O. M. Shulhay², I. B. Chornomydz², U. M. Mudryk², H. V. Makukh²

¹I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

²Institute of Hereditary Pathology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine

Purpose: to determine the possibilities of newborn screening for T and B cell lymphopenia in Ukraine for the diagnosis of SCID.

Materials and Methods. A search and analysis of available literature sources in the PubMed database, using a combination of keywords “early diagnosis”, “neonatal screening”, “TREC”, “KREC”, “primary immunodeficiency”, “SCID”, “T and B cell lymphopenia”.

Results. Detection of SCID and antibody defects is based on the method using molecular genetic methods of quantitative detection of T-cell receptor excision circle (TREC), which is a product of T-cell differentiation in the

thymus, and determine T cell lymphopenia, and kappa-deleting recombination excision circle (KREC), which are formed during the maturation of B cells in the bone marrow and determine B cell lymphopenia.

Newborn screening using TREC/KREC assay will allow early recognition of SCID, provide timely hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), before severe infections will be presented, that is very important as infections significantly worsen the prognosis of treatment. In addition, newborn screening will allow to establish the real prevalence of SCID in Ukraine, as well as detecting of other diseases with lymphopenia.

Conclusions. The analysis of literature data indicates the feasibility of conducting a pilot study on newborn screening of primary immunodeficiency by using TRECs and KRECs assay for T- and B-lymphopenia, which will allow to choose the best method, determine the cutoff value of TRECs and KRECs levels for the diagnosis of lymphopenia and SCID in Ukraine.

KEY WORDS: newborn screening; severe combined immunodeficiency; TREC; KREC; T cell lymphopenia.

Рукопис надійшов до редакції 25.05.2020 р.

Відомості про авторів:

Боярчук Оксана Романівна – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; тел.: +38(0352) 26-90-61.

Ярема Наталя Михайлівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Кінаш Марія Ігорівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Гаріян Тетяна Вікторівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Волянська Любов Августинівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Шульгай Олександра Михайлівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Чорномидз Ірина Богданівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Мудрик Уляна Михайлівна – доцент кафедри дитячих хвороб з дитячою хірургією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Макух Галина Василівна – завідувач лабораторії генетичних досліджень ДУ «Інститут спадкової патології Національної академії медичних наук України».