

УДК 616-07-08:611.018.5

С.С. Исакова¹, О.Н. Уразаев², Е.Ж. Бекмухамбетов², Г. Дворацки³*Западно-Казахстанский государственный медицинский университет им. Марата Оспанова,**¹Кафедра фармакологии, ²Кафедра онкологии и визуальной диагностики г. Актобе, Казахстан;**³Кафедра фармакологии Медицинского университета им. К. Марчинковского, г. Познань, Польша*

ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ TREC (T-CELL RECEPTOR EXCISION CIRCLES) В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аннотация

TREC служит маркером Т-лимфоцитов, которые были выделены вилочковой железой после этапа дифференцировки. В обзоре представлены работы, обосновывающие определение уровня TREC как наиболее доступного и малоинвазивного метода в диагностике, мониторинге и прогнозировании таких заболеваний, как: иммунодефициты, ВИЧ-инфекции и при трансплантации костного мозга.

Ключевые слова: TREC, диагностика, реаранжировка Т-клеточного рецептора.

Что такое TREC?

Т-рецепторные эксцизионные кольца (T-cell Receptor Excision Circles - TREC) – структуры формирующиеся в процессе перестройки генов Т-клеточного рецептора, когда часть генетического материала вырезается, замыкается в кольцо и служит маркером Т-клеток, недавно мигрировавших из тимуса и ещё не вступивших в процесс пролиферации. TREC может сохраняться в зрелых Т-клетках в течение значительного периода времени [1; 2]. Впервые об использовании TREC для изучения изменений в частоте Т-лимфоцитов эмигрировавших из тимуса при инфекции вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) сообщили в 1998 году Douek и соавт. [3].

Реаранжировка Т-клеточного рецептора и формирование TREC

Т-лимфоциты благодаря Т-клеточному рецептору (T-Cell Receptor TCR) распознают чужеродные антигены. Четыре гена TCR кодируют два типа дисульфида, связанные гетеродимерами. Классическая TCR состоит из α и β цепей, которые выражены у большинства периферических Т-лимфоцитов. Существует и альтернатива, состоящая из γ и δ цепей. В периферических Т-лимфоцитах их насчитывают от 2 до 14 % [4]. Процесс образования TCR представляет собой случайную перестановку различных сегментов ДНК V (variable), D (diversity) и J (joining) [5].

V (D) и J - рекомбинация происходит за счёт последовательностей, которые являются сигнальными для рекомбинации (recombination signal sequences RSS). RSS состоит из последовательностей консервативного гептамера (CACAGTG) и нонамера (ACAATAACC), которые обеспечивают правильное расположение полипептидной цепи в эндоплазматическом ретикулуме и правильную экспрессию на клеточной мембране. Во время созревания предшественники Т-клеток временно выделяют гены RAG1 и RAG2 для того, чтобы соединить вместе сегменты V, (D) и J. Два последовательных сигнала экспрессии генов RAG1 и RAG2 совпадают с реаранжировкой цепи TCRB и TCRA. Соединение между отдельными сегментами V, (D) и J приводит к образованию цепи β TCR широкого спектра различной нуклеотидной последовательности. В дальнейшем это способствует созданию разнообразной цепи α и β TCR, что достигается путём добавления N и P нук-

леотидов. В действительности участок дезоксинуклеотидной трансферазы в случайном порядке объединяет дезоксинуклеотиды на стыке сегментов. Структура конечного цикла – это результат начала распада двуспиральной ДНК, которая способствует расщеплению и созданию «липких концов», которые и приводят к вставке Р-нуклеотидов между реаранжированными сегментами. Эти два события резко увеличивают разнообразие TCR. В течение любого процесса реаранжировки ДНК оказываются расположенными между двумя RSS, в результате чего формируется внехромосомное круговое иссечение, содержащее два лигированных RSS. Это и есть разнообразие побочных продуктов круговых колец ДНК, называемых TREC [6]. Во время реаранжировки гена TCR вырезанные фрагменты ДНК сохраняются в клетках эпизотально как TREC. В ходе первой реаранжировки Т-клеточного рецептора происходит удаление локуса TCR δ из локуса TCR α . В результате этого деления образуются два вида TREC: sjTREC (signal-joint) и cjTREC (coding-joint) [3]. Если реаранжировка происходит в обеих аллелях, то максимум два sjTREC и два cjTREC могут присутствовать в одной $\alpha\beta$ Т-клетке. Затем TREC выходит из тимуса на периферию в виде недавно мигрировавших клеток из тимуса (Recent thymus emigrants RTE). Таким образом, уровень TREC на периферии может отражать число RTE. Окружности TREC являются стабильными и не дублируются во время митоза, поэтому их концентрация разбавляется с каждым делением клетки [7].

TREC как иммунологический мониторинг при трансплантации стволовых клеток

Анализ TREC в ранние сроки после трансплантации стволовых клеток создаёт возможность выявить пациентов с дефицитом Т-клеток на ранней стадии и тем самым предупредить развитие инфекционных осложнений.

Регулярное измерение уровня TREC может показать снижение или повышение выброса вилочковой железы, скорость пролиферации Т-клеток [8], а также в некоторых случаях является важным фактором в решении вопроса о ретрансплантации или увеличении донорских стволовых клеток [9]. Sairafi и соавт. [10] поддерживают использование анализа TREC в качестве стандартного параметра после трансплантации. Выявлено, что у пациентов с высоким уровнем TREC через 3 месяца после транс-

плантации отмечается высокая степень выживаемости [10].

Трансплантация стволовых клеток является общей стратегией лечения онкогематологических больных и других видов заболеваний крови [11]. Результаты нескольких исследований показали роль функции тимуса в контексте с трансплантацией стволовых клеток. Было показано, что восстановление уровня TREC после миелоаблативного кондиционирования связано с восстановлением нормального состава наивных Т-клеток и разнообразия TCR [12].

Использование TREC в диагностике тяжёлых комбинированных иммунодефицитов

Определение содержания TREC стало эффективным инструментом и в диагностике иммунодефицитов, который позволяет идентифицировать недавно мигрировавшие Т-клетки из тимуса в периферической крови [13].

Наиболее серьёзным типом иммунодефицита является тяжелый комбинированный иммунодефицит SCID (Severe Combined Immunodeficiency), который характеризуется нарушением развития Т-лимфоцитов. Любое абсолютное количество лимфоцитов ниже 2500/ml является потенциально патогенным в раннем детстве, и младенец должен быть обследован на SCID [14]. По мнению Morinishi и соавт. [Morinishi et al., 2009], важными преимуществами использования TREC для скрининга новорождённых с SCID являются: способность использования сухой капли крови, низкая стоимость, высокая пропускная способность и высокая чувствительность [15].

Два пионерских исследования с использованием TREC, извлечённых из ДНК посредством RTqPCR, подтвердили свою точность в выявлении детей с SCID независимо от причины его возникновения. В диагностике SCID специфичность анализа TREC составила 92,3%, а чувствительность 100% [16]. В крупном экспериментальном исследовании из 5766 новорожденных пациентов с SCID было указано, что измерение TREC является стабильным анализом, который может определить лимфопению Т-клеток в крови. Так, в 2008 году TREC был впервые адаптирован к использованию в программе скрининга новорождённых SCID штата Висконсин, США [17].

TREC в диагностике ВИЧ инфекций

Анализ TREC применяется для изучения влияния ВИЧ-инфекции на выброс вилочковой железы.

ВИЧ поражает как зрелые Т-клетки CD4+, так и тимocyты CD4+ [18]. При хроническом течении заболевания число Т-клеток CD4+ постепенно снижается и приводит, в конечном счёте, к состоянию иммунодефицита (СПИД). Во время ВИЧ-инфекции наступает дисфункция вилочковой железы. Однако уровни TREC среди пациентов изменчивы, и в начальной стадии инфекции, по сравнению со здоровыми людьми, разница может не наблюдаться [19]. В результате проведённого исследования на ранней стадии терапии уровень TREC представляет активный тимопоз, который служит для нормально функционального цикла Т-клеток [20].

Мониторинг TREC был также использован для изучения влияния терапии малых доз длительного рекомбинантного человеческого гормона роста на восстановление иммунитета у ВИЧ-инфицированных пациентов. Этот режим лечения

восстанавливает некоторые функции тимуса, после которой отмечалась стимуляция тимопоза [Hansen et al., 2009]. Таким образом, многочисленные данные подтверждают, что уровень TREC является полезным маркером функции тимуса и у ВИЧ-1-инфицированных лиц [28; 20; 22; 23].

Методы определения TREC

Для измерения концентрации TREC используют различные методы полимеразной цепной реакции (ПЦР). К ним относятся: количественный ПЦР в реальном времени и иммуноферментный анализ ПЦР (ИФА-ПЦР). Единицы измерения концентрации TREC также варьируются. В совокупности эти факторы делают его трудным в интерпретации и сравнении данных TREC между исследованиями [24]. Предпочтительным представляется исследование TREC на основе ИФА-ПЦР в связи с тем, что он более чувствительный и точный, основан на специфической детекции, усиленной последовательностью мишени в течение каждого цикла ПЦР. Следовательно, никакой обработки после ПЦР не требуется, что делает этот метод быстрым, снижает нагрузку и предотвращает перекрёстное загрязнение продуктов ПЦР [25].

Однако с применением TREC у новорождённых с иммунодефицитами есть и ложноположительные результаты. Они связаны не только с нарушением техники забора крови или использованием значения отсечки, но и с низким уровнем содержания Т-клеток у недоношенных новорождённых, несмотря на нормальные уровни TREC при подсчёте проточной цитометрией [26]. Таким образом, разработан протокол для всех недоношенных детей (меньше чем 37 недель беременности), у которых были выявлены аномальные уровни или неубедительные результаты TREC. У таких пациентов проводится мониторинг уровня TREC до тех пор, пока они не достигнут уровня 37-и недельной беременности. Далее определение уровня TREC осуществляется по разработанному протоколу [27]. Несмотря на ограничения использования, анализ TREC считается наименее инвазивным методом для оценки деятельности тимуса, позволяющего обеспечить столь необходимую информацию о Т-клетках иммунной системы не только для пациентов с иммунодефицитами, но и для других форм Т-клеточной лимфопении. Особенно это важно для тех стран, где отмечается высокий уровень кровосмешения [28].

У ВИЧ-1-инфицированных взрослых количественное определение TREC был использовано для оценки функции тимуса и статуса иммунного восстановления Т-клеток. [3]. У детей измерение уровня TREC может быть использовано в качестве маркера для определения возможности поддержания уровня Т-лимфоцитов после высокоактивной антиретровирусной терапии. Но и здесь есть определённые проблемы в интерпретации данных TREC. Это связано с тем, что ВИЧ-инфекция приводит к генерализованной иммунной активации, что в свою очередь приводит к активной пролиферации Т-клеток на периферии и высокому уровню смертности Т-клеток. Кроме того, нарушается миграция Т-клеток в крови между периферическими органами и лимфатических узлами [29].

Заключение:

Обзор представленных данных показывает, что измерение TREC является хорошим показателем

уровня выброса клеток тимуса в периферической крови, а также функциональной способности вилочковой железы в производстве Т-клеток. Применение TREC в клинической практике зарекомендовало себя как наиболее точный анализ в диагностике, профилактике, а также в прогнозировании таких серьезных заболеваний как ВИЧ, иммунодефициты и злокачественные заболевания кроветворной системы.

Литература:

1. Livak F, Schatz DG (1996) T-cell receptor alpha locus V (D) J recombination by-products are abundant in thymocytes and mature T cells. //Mol Cell Biol. № 16. - P. 609–618.
2. Донецкова А.Д., Фроленко А.Л., Трошина В.В., Смолягин А.И., Ярилин А.А. Тимусные эксцизионные кольца в лимфоцитах периферической крови. Возрастная динамика и влияние тимэктомии //Иммунология. 2010. - Т 31. - № 6. - С. 293-298.
3. Douek DC, McFarland RD, Keiser PH, Gage EA, Massey JM, Haynes BF, Polis MA, Haase AT, Feinberg MB, Sullivan JL, Jamieson BD, Zack JA, Picker LJ, Koup RA. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. //Nature. 1998. № 396. - P. 690–695.
4. Van Dongen JJM, Comans-Bitter WM, Wolvers-Tettero ILM, Borst J (1990) Development of human T lymphocytes and their thymus-dependency. //Thymus. № 16. - P. 207–234
5. Jamieson BD, Douek DC, Killian S, *et al.* Generation of functional thymocytes in the human adult. //Immunity 1999. № 10. - P. 569–575.
6. Verschuren MC, Wolvers-Tettero IL, Breit TM, Noordzij J, van Wering ER, van Dongen JJ. Preferential rearrangements of the T cell receptor-delta-deleting elements in human T cells. //Journal of Immunology. 1997. № 158. - P. 1208–1216.
7. McFarland, R.D., D.C. Douek, R.A. Koup, and L. J. Picker. Identification of a human recent thymic emigrant phenotype. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. № 97. - P. 4215.
8. Borghans JA, Bredius RG, Hazenberg MD, Roelofs H, Jol-van der Zijde EC, Heidt J, Otto SA, Kuipers TW, Fibbe WE, Vossen JM, Miedema F, van Tol MJ. Early determinants of long-term T-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation for severe combined immunodeficiency. // Blood. 2006. №108(2). - P. 763-769.
9. Haddad E, Landais P, Friedrich W, *et al.* Long-term immune reconstitution and outcome after HLA-nonidentical T-cell-depleted bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency: a European retrospective study of 116 patients. // Blood. 1998. № 91. - P. 3646-3653.
10. 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. № 142(3). - P. 343-50.
11. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. // N Engl J Med. 2006. № 11. - P. 1813–1826.
12. Douek D.C., Vescio R.A., Betts M.R., Brenchley J.M., Hill B.J., Zhang L., Berenson J.R., Collins R.H., Koup R.A. Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. // Lancet. 2000. № 355. - P. 1875–1881.
13. Somech R, Lev A, Simon AJ, Korn D, Garty BZ, Amariglio N, Rechavi G, Almashanu S, Zlotogora J, Etzioni A. Newborn screening for severe T and B cell immunodeficiency in Israel: a pilot study. //Isr Med Assoc J. 2013. № 15(8). - P. 404-409.
14. Adeli MM, Buckley RH. Why newborn screening for severe combined immunodeficiency is essential: a case report. // Pediatrics 2010. № 126. - P. 465 – 469.
15. 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. № 155. - P. 829–833.
16. McGhee SA, Stiehm ER, Cowan M, *et al.* Two-tiered universal newborn screening strategy for severe combined immunodeficiency. Mol Genet Metab 2005; 86:427–430.
17. Baker MW, Grossman WJ, Laessig RH, Hoffman GL, Brokopp CD, Kurtycz DF, *et al.* Development of a routine newborn screening protocol for severe combined immunodeficiency. //J Allergy Clin Immunol. 2009. № 124. P. 522–527.
18. Haynes BF, Markert ML, Sempowski GD, Patel DD, Hale LP. The role of the thymus in immune reconstitution in aging, bone marrow transplantation, and HIV-1 infection. //Annu Rev Immunol 2000. № 18. - P. 529–560.
19. Pahwa S, *et al.* CD4p and CD8p T cell receptor repertoire perturbations with normal levels of T cell receptor excision circles in HIV-infected, therapy-naive adolescents. //AIDS Res Hum Retroviruses. 2003. №19. - P. 487–495.
20. Saitoh A, Singh KK, Sandall S, *et al.* Association of CD4p T-lymphocyte counts and new thymic emigrants in HIV-infected children during successful highly active antiretroviral therapy. J Allergy Clin Immunol. 2006. № 117. - P. 909–915.
21. Hansen BR, Kolte L, Haugaard SB, *et al.* Improved thymic index, density and output in HIV-infected patients following low-dose growth hormone therapy: a placebo controlled study. // AIDS. 2009. №23. - P. 2123–2131.
22. Yin L, Rodriguez CA, Hou W, *et al.* Antiretroviral therapy corrects HIV-1- induced expansion of CD8p CD45RAp CD2-) CD11a(bright) activated T cells. J Allergy Clin Immunol. 2008. № 122. - P. 166–172.
23. Anselmi A, Vendrame D, Rampon O, *et al.* Immune reconstitution in human immunodeficiency virus type 1-infected children with different virological responses to antiretroviral therapy. // Clin Exp Immunol. 2007. № 150. - P. 442–450.
24. Kirschner DE. Reevaluation of T cell receptor excision circles as a measure of human recent thymic emigrants. //J Immunol. 2002. № 168(10). P. 4968-79.
25. Mette D, Hazenberg, Martie C.M. Verschuren, Dörte Hamann, Frank Miedema, Jacques J.M. van Dongen. T cell receptor excision circles as markers for recent thymic emigrants: basic aspects, technical approach, and guidelines for interpretation. //J Mol Med. 2001. № 79. - P. 631–640.
26. Chan K, Puck J. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. //J Allergy Clin Immunol. 2005. №115. - P. 391–398.
27. Routes JM, Grossman WJ, Verbsky J, *et al.* Statewide newborn screening for severe T- cell lymphoma.

phopenia. J Am Med Assoc 2009; 302:2465–2470.

28. Somech R. T-cell receptor excision circles in primary immunodeficiencies and other T-cell immune disorders. // Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2011. № 11(6). P. 517-524.

29. Ribeiro RM, Perelson AS. Determining thymic output quantitatively: using models to interpret experimental T-cell receptor excision circle (TREC) data. // Immunol Rev. 2007. № 216. P. 21-34.

Тұжырым

АУРУЛАРДЫҢ ДИАГНОСТИКА ЖӘНЕ БОЛЖАУЫНДАҒЫ TREC (T-CELL RECEPTOR EXCISION CIRCLES) ДЕНГЕЙЛЕРІН АНҚАУДЫҢ МАҢЫЗЫ

С.С. Исқакова¹, О.Н. Оразаяев², Е.Ж. Бекмұхамбетов², Г. Дворацик³

Марат Оспанов атындағы Батыс Қазақстан мемлекеттік медицина университеті, Ақтөбе қ. Қазақстан

¹Фармакология кафедрасы, ²Онкология және визуалді диагностика кафедрасы;

³К. Марчинковский атындағы медицина университеті, Клиникалық иммунология кафедрасы, Познань, Польша

Шолуда аурудың диагностикасында, мониторинг пен болжауында TREC (T-cell Receptor Excision Circles) денгейін аңқтау ең қолжетімді және азінвазивті әдіс екенін дәлелдейтін жұмыстар көрсетілген.

Негізгі сөздер: TREC, диагностика, T-жасушасының рецепторін реаранжирациясы.

Summary

LEVEL OF TREC (T-CELL RECEPTOR EXCISION CIRCLES) DETERMINATION IN DIAGNOSIS, MONITORING AND PROGNOSIS OF DISEASES

S. Iskakova¹, O. Urazayev², Ye. Bektukhambetov², G. Dworacki³

West Kazakhstan Marat Ospanov State Medical University, Aktobe, Kazakhstan

¹ Department of Pharmacology, ² Department of oncology and visual diagnostics

³ Department Clinical Immunology of Poznan University of Medical Sciences, Poland

TREC is a marker of T-lymphocytes that were isolated by thymus after differentiation. This review summarizes that the work justify definition TREC level as the most accessible and minimally invasive method in the diagnosis, monitoring and prognosis of diseases such as: immunodeficiency, HIV and bone marrow transplantation.

Key words: TREC, diagnosis, T-cell receptor rearrangement.

УДК: 616-001-036-614.86

А.О. Мысаев¹, К.Е. Сеулханов², С.В. Сурков¹, Н.А. Бокембаев¹, Т.Ж. Амренов¹, Алт.О. Мысаев¹

¹Государственный медицинский университет города Семей,

²Больница скорой медицинской помощи, г. Семей, Травматологический пункт

ДОРОЖНО-ТРАНСПОРТНЫЙ ТРАВМАТИЗМ. ЧАСТЬ 1: ЭПИДЕМИОЛОГИЯ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Аннотация

Дорожно-транспортные происшествия и связанный с ними травматизм является актуальной проблемой современного человечества. В статье приведен литературный обзор отечественных и зарубежных научных публикаций по теме дорожно-транспортного травматизма глубиной 15 лет. В поиске использовались базы данных Google scholar и PubMed. В данной работе представлена часть 1, касающаяся вопросов эпидемиологии изучаемого явления в мировом и региональном масштабе. «Часть 2: Факторы риска и меры профилактики» и «Часть 3: Система оказания медицинской помощи пострадавшим в дорожно-транспортных происшествиях» будут опубликованы в следующих номерах журнала.

Ключевые слова: дорожно-транспортный травматизм, эпидемиология, литературный обзор.

Травматизм и смертность от внешних причин, признанные во всем мире как предотвратимые состояния, продолжают оставаться в числе актуальных проблем здравоохранения [1–8]. Они характеризуются высокой распространенностью, тенденцией к росту, а также медицинской, социальной и экономической значимостью [4–6; 9–23]. До 80% смертей в мире приходится на долю управляемых причин, в том числе травмы и

отравления [24]. Ежегодный рост травматизма составляет 1,5-10% [4; 11–15; 18; 19].

По данным международной транспортной статистики наиболее аварийным и травматичным во всем мире является автомобильный транспорт (Всемирная организация здравоохранения, 2005). Среди причин травм дорожно-транспортные происшествия (ДТП) составляют 1,5-16% [5; 9; 11; 18; 25–28], инвалидности