



МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МАТЕРИНСКОГО МИКРОХИМЕРИЗМА У ПАЦИЕНТА С ТЯЖЕЛОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

*Пищачо Вероника Викторовна¹, Капуза Дарья Романовна¹, Русакович Екатерина Юрьевна¹,
Полякова Екатерина Александровна¹, Савицкая Татьяна Владимировна¹*

¹Республиканский научно-практический центр детской онкологии,
гематологии и иммунологии, 223053, д. Боровляны, ул.Фрунзенская, 43

V_Pishchako@mail.ru

Введение:

Трансплацентарная миграция клеток – это естественный процесс обмена клетками между организмом матери и плода. Фетальный микрохимеризм может выявляться у женщин спустя 10 лет после первой беременности. А как долго может персистировать материнский микрохимеризм? Согласно литературным данным, у 40% пациентов с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН) наблюдается явление материнского микрохимеризма. Мы описываем клинический случай двухлетнего мальчика с х-сцепленной ТКИН, вызванной гемизиготной мутацией в гене IL2RG.

Цель:

Провести HLA-генотипирование 2-летнему мальчику с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью и персистенцией материнского микрохимеризма.

Материалы и методы:

Материалом для молекулярно-генетических исследований служила ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови и буккального эпителия методом фенол-хлороформной экстракции.

1. HLA-генотипирование по I и II классу методом SBT .

2. Молекулярно-генетический анализ коротких tandemных повторов (STR-локусов) методом STR-ПЦР и последующим фрагментным анализом.

Результаты и обсуждения:

1. Для поиска донора и последующей ТГСК проведено HLA-генотипирование лейкоцитов периферической крови (ПК) по I и II классу.

3. Для исключения контаминации проведено повторное типирование с другим образцом лейкоцитов. Результат по II классу интерпретировать не удалось.

4. Для исключения примеси материнских лимфоцитов в образцах ПК пациента, проведено HLA-генотипирование буккального эпителия.

2. Идентифицирована третья аллель в локусе DQB1.

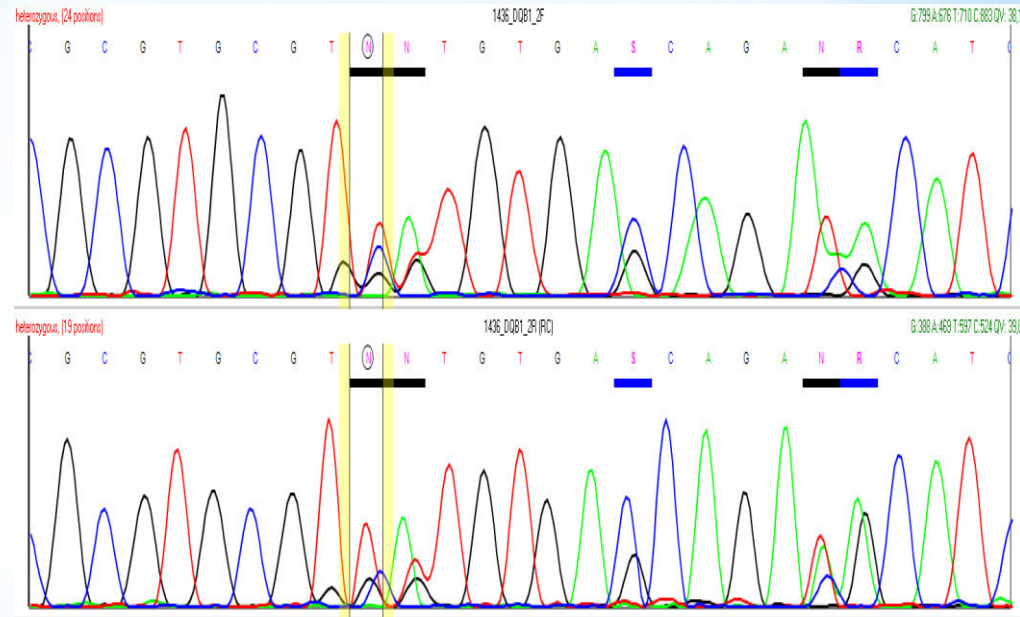


Рисунок 1 – HLA-генотипирование локуса DQB1.

5. Идентифицировать аллели в локусе DQB1 оказалось невозможным. Впоследствии выяснилось, что ребенок периодически находился на грудном вскармливании, что могло стать причиной присутствия материнской ДНК в буккальном эпителии.

Результаты и обсуждения:

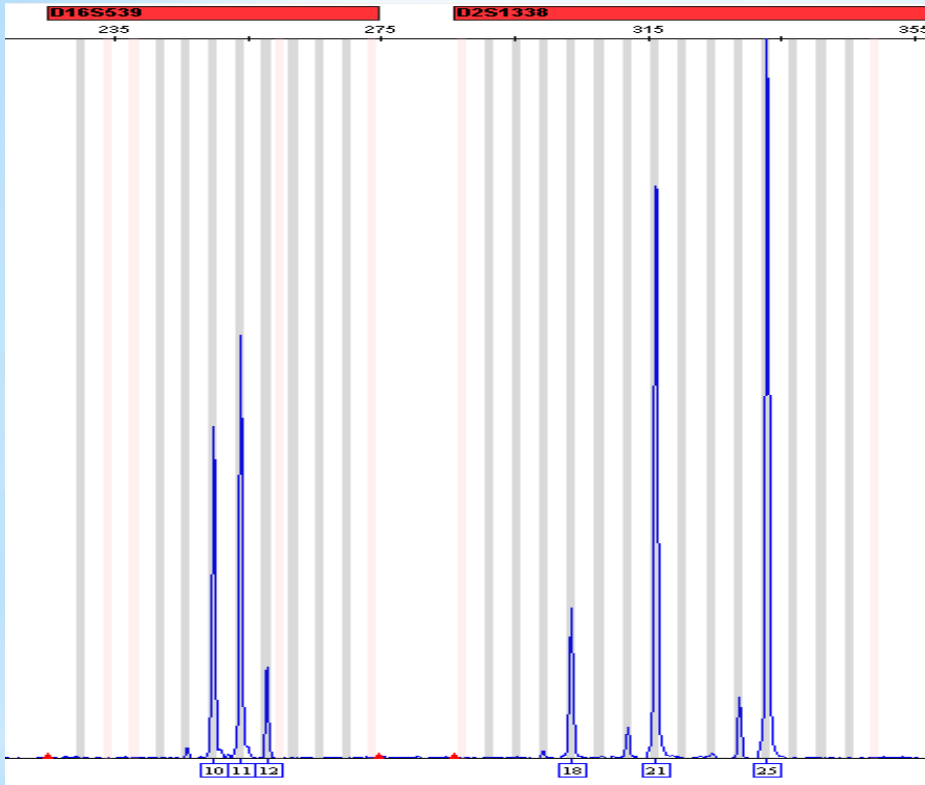


Рисунок 2 – Фрагментный анализ локусов D16S539, D2S1338 пациента.

7. Как видно из полученных результатов, в образце крови пациента присутствовала примесь материнских клеток, что означало наличие материнского микрохимеризма.

6. Чтобы дифференцировать химеризм от мозаицизма проведен молекулярно-генетический анализ коротких tandemных повторов (STR-локусов).

Исследуемые локусы ДНК	Образец крови отца	Образец крови матери	Образец крови пациента	Образец <u>бuccального</u> эпителия пациента на период грудного вскармливания	Образец <u>бuccального</u> эпителия пациента
	<u>Неаллели/Неаллели</u>	<u>Неаллели/Неаллели</u>	<u>Неаллели/Неаллели</u>	<u>Неаллели/Неаллели</u>	<u>Неаллели/Неаллели</u>
D3S1358	15/17	14/18	14/17/18*	14/17/18*	14/17
<u>vWA</u>	17/17	17/19	17/17/19*	17/17/19*	17/17
D16S539	10/13	11/12	10/11/12*	10/11/12*	10/11
D2S1338	21/24	18/25	18*/21/25	18*/21/25	21/25
<u>amelogenin</u>	XY	XX	XY	XY	XY
D8S1179	12/12	10/12	10/12	10/12	10/12
D21S11	29/30	29/30.2	29/30/30.2*	29/30/30.2*	29/30
D18S51	11/18	12/18	11/12*/18	11/12*/18	11/18
D19S433	15/16	14/15	14*/15/15	14*/15/15	15/15
TH01	6/9	7/7	6/7	6/7	6/7
FGA	22/24	21/22	21/22*/24	21/22*/24	21/24

* дополнительная аллель

Рисунок 3 – Результаты анализа коротких tandemных повторов (STR-локусов) пациента и его родителей.

Выводы:

1. HLA-типирование методом SBT позволило обнаружить 3 аллеля в локусе DQB1, что дало возможность предположить о персистенции материнского микрохимеризма.
2. Наличие материнского микрохимеризма может затруднять проведение HLA-генотипирования у пациентов с ТКИН.