

УДК 616.8-009.26-06:616.16-007.64-097

DOI: 10.14427/jipai.2022.2.6

## Количественное определение кольцевых фрагментов ДНК Т- и В-клеточного рецептора TREC/KREC у пациентов с атаксией-телеангиэктазией с мутацией в гене ATM

Е.А. Полякова, И.Е. Гурьянова, М.В. Стёганцева, С.О. Шарапова, И.С. Сакович, А.Н. Купчинская, С.Н. Алешкевич, Ю.С. Жаранкова, В.И. Казак, Т.П. Володащик, М.В. Белевцев

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

### Quantitative determination of circular DNA fragments of the T- and B-cell receptor TREC/KREC in patients with ataxia-telangiectasia with a mutation in the ATM gene

E.A. Polyakova, I.E. Guryanova, M.V. Stegantseva, S.O. Sharapova, I.S. Sakovich, A.N. Kupchinskaya, S.N. Aleshkevich, Y.S. Zharankova, V.I. Kazak, T.P. Volodashchik, M.V. Belevtsev

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

#### Аннотация

**Цель.** Оценить диагностическую значимость количественного определения кольцевых фрагментов ДНК Т- и В-клеточного рецептора в периферической крови пациентов для диагностики атаксии-телеангиэктазии.

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужили образцы периферической крови 14 пациентов с атаксией-телеангиэктазией в возрасте 4,9 (1,6; 14,4) лет с мутациями в гене мутантного при атаксии-телеангиэктазии белка (ATM) и 40 здоровых детей в возрасте 11,0 (6,7; 14,8) лет.

**Результаты и обсуждение.** У пациентов с атаксией-телеангиэктазией выявлено значимое снижение значений T-cell receptor excision circles (TREC) и kappa-deleting recombination excision circles (KREC) ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы здоровых детей. Диагностическая чувствительность и специфичность относительно использования определения TREC (92,8% и 93,4% соответственно) и KREC (85,7% и 96,7% соответственно) у пациентов с атаксией-телеангиэктазией позволяют использовать данный анализ в лабораторной практике.

**Выводы.** Метод количественного определения TREC и KREC ввиду высоких значений чувствительности и специфичности применяемой методики может быть использован в диагностике атаксии-телеангиэктазии.

#### Ключевые слова

TREC, KREC, ген ATM, атаксия-телеангиэктазия.

#### Summary

**Purpose.** Evaluate the diagnostic significance of quantitative determination of T- and B-cell receptor DNA ring fragments in peripheral blood of patients for diagnosis of ataxia-telangiectasia.

**Materials and methods.** The subjects of the study were peripheral blood samples from 14 patients diagnosed with ataxia-telangiectasia aged 4.9 (1.6; 14.4) years with mutations in the ATM gene and from 40 healthy children aged 11.0 (6.7; 14.8) years.

**Results and discussion.** Patients with ataxia-telangiectasia revealed a significant decrease in TREC and KREC values ( $p < 0.05$ ) compared to the control group of healthy children. Diagnostic sensitivity and specificity concerning the use of TREC determination (92.8% and 93.4% respectively) and KREC (85.7% and 96.7% respectively) in patients with ataxia-telangiectasia allow the use of this analysis in laboratory practice.

**Conclusion.** The method of quantitative determination of TREC and KREC due to high values of sensitivity and specificity of the applied technique can be used in the diagnosis of ataxia-telangiectasia.

#### Keywords

TREC, KREC, ATM gene, ataxia-telangiectasia.

## Введение

Атаксия-телеангиэктазия (АТ) представляет собой генетическое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, относящееся к группе первичных иммунодефицитов (ПИД). Мутации в гене мутантного при атаксии-телеангиэктазии белка (АТМ) являются причиной нарушения V-D-J рекомбинации Т- и В-клеточного рецептора, что приводит к гуморальному и клеточному иммунодефициту [1–3]. АТ характеризуется сочетанием хромосомной нестабильности, прогрессирующими неврологическими расстройствами, мозжечковой атаксией и астазией [4]. Патогномичным симптомом является телеангиэктазия кожи и склер глаз. Вследствие поражения клеточного и гуморального звеньев иммунитета пациенты страдают частыми рецидивирующими синопульмонарными инфекциями, повышенной восприимчивостью к ионизирующему излучению, а также высоким риском развития лимфом и других онкологических заболеваний [5, 6]. Первые симптомы в виде неврологических нарушений начинают проявляться с возраста 1-3 лет, когда ребенок начинает ходить. Часто заболевание может протекать латентно, без видимых симптомов. Манифестация проявления ангиэктазий приходится на возраст 5-7 лет и старше. Если АТ проявляется у новорожденного ребенка, то это, как правило, приводит к летальному исходу, причем без возможности правильно и своевременно диагностировать данное заболевание [6].

Главным лабораторным критерием является повышение уровня альфа-фетопротеина (АФП). Иммунологические нарушения гетерогенны. Проявляются нормальным или увеличенным количеством Т-лимфоцитов (CD3+) и В-лимфоцитов (CD19+), с преобладанием незрелых клеток. Однако не всегда определение субпопуляционного состава минорных лимфоцитов позволяет заподозрить у пациента данную патологию [7]. Широко известно, что дефицит АТМ вследствие мутации в данном гене приводит к нарушению реаранжировки Т-клеточного рецептора на поверхности (CD4+CD8+) Т-лимфоцитов, что приводит к изменению селекции тимоцитов. Процесс диагностики АТ может длиться долгое время и может включать множество процедур, например, люмбальную пункцию, биопсию мышц и диагностическое рентгенологическое исследование, которое потенциально опасно в контексте нарушений репарации ДНК [7]. Учитывая тот факт, что генетические поломки в гене АТМ

приводят к нарушению реаранжировок ДНК Т- и В-клеточного рецепторов, более чем в 85% случаев дефицит иммунитета у таких пациентов можно выявить при помощи оценки количества продуктов рекомбинации генов ДНК Т- и В-клеточного рецептора TREC и KREC, который может быть потенциально полезным для раннего выявления заболеваний, сопровождающихся генетически обусловленной лимфопенией [7, 8].

Кольцевые фрагменты ДНК Т- и В-клеточного рецептора TREC/KREC образуются на ранних стадиях развития лимфоцитов в процессе клеточной реаранжировки ДНК генов Т-клеточного рецептора – TREC (от англ. «T-cell receptor excision circles») и В-клеточного рецептора – KREC (от англ. «kappa-deleting recombination excision circles»). В процессе реаранжировки генов нефункциональные участки в последовательности ДНК вырезаются, функциональные сегменты лигируются с образованием кодирующего (coding joint TREC) и сигнального (signal joint TREC) соединений. Сигнальные последовательности замыкаются в кольцо и служат маркерами наивных Т- и В-лимфоцитов. Таким образом, TREC и KREC представляют собой кольцевые фрагменты, которые служат суррогатными маркерами Т- и В-клеточного неогенеза [9, 10].

В настоящее время основной проблемой АТ является поздняя диагностика, которая влечет за собой неадекватное или несвоевременное лечение заболевания, что приводит к ранней инвалидизации и смертности.

**Цель:** оценить диагностическую значимость количественного определения кольцевых фрагментов ДНК Т- и В-клеточного рецептора в периферической крови для диагностики атаксии-телеангиэктазии.

## Материалы и методы

Объектом исследования послужили образцы геномной ДНК периферической крови 14 пациентов с диагнозом «синдром АТ» и 40 здоровых детей в возрасте 11,0 (6,7; 14,8) лет. Медиана возраста пациентов с атаксией-телеангиэктазией составила – 4,9 (1,6; 14,4) лет.

Геномную ДНК выделяли из периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции.

Мутации в гене АТМ выявляли методом секвенирования по Сенгеру с использованием аппарата для капиллярного секвенирования (Applied Biosystems 3130). Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения для анализа последовательности Sequencing Analysis 5.2 и редактора выравнивания последователь-

ностей Bioedit. Референсные последовательности генов были взяты из базы данных Ensembl.org. Все выявленные мутации согласно программам Mutation Taster, FATHMM, SIFT, CADD, PolyPhen2\_HVAR и базам данных Varsome.com, ncbi.nlm.nih.gov/clinvar, прогнозирующим функциональные последствия несинонимичных замен, сайтов-сплайсинга, были классифицированы как патогенные, участвующие в развитии АТ с нарушением функции гена АТМ.

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови проводили с использованием проточного цитофлюориметра Navios (Becton Coulter, Великобритания) в соответствии со стандартной диагностической панелью: CD3+, CD3+HLA-DR+, CD4+CD8-, CD4-CD8+, CD19+, CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+, CD3+CD4+CD45RA+, CD3+CD8+CD45RA+. Дополнительно определяли количество ранних тимических мигрантов CD3+CD4+CD45RA+CD31+. Для иммунофенотипирования использовали моноклональные антитела XBIO (Чехия).

Определение количества копий TREC и KREC проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в «реальном времени» (ПЦР-РВ) с использованием амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США).

Реакционная смесь состояла из 10,0 мкл ArtMix (АртБиоТех, Беларусь), 5,0 мкл воды и 1,0 мкл смеси праймеров с концентрацией 6 пмоль для прямого и обратного праймеров и 4 пмоль для флуоресцентной пробы (Праймтех, Беларусь). Реакцию осуществляли согласно инструкции производителя в дуплетах. Данные анализировали с использованием Real-time RCR Data Analysis (Bio-Rad, США).

В качестве калибраторов использовали серийные разведения плазмидной ДНК, содержащей вставку контрольного гена (альбумина) TREC, KREC, с концентрацией  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  копий в 5 мкл.

Количество копий TREC, KREC на 1 млн. лейкоцитов периферической крови рассчитывали по формуле:

$$1000000 \times \frac{\text{среднее SQ TREC (KREC)}}{\text{среднее SQ ALB/2}}$$

**Статистический анализ** проводили с использованием программы «GraphPad Prism 6.0». Оценку соответствия вида распределения количественных показателей в выборке закону нормального распределения выполняли при помощи критерия Шапиро-Уилка. В зависимости

от характера распределения результаты представлены в виде: среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего, медианы (2,5%; 97,5%). Для количественных переменных, не подчиняющихся закону нормального распределения, использовали непараметрические методы представления количественных данных в виде медианы, минимума-максимума значений. Различия между группами определяли с использованием критерия Манна-Уитни с уровнем статистической значимости при  $p < 0,05$ . Для оценки диагностической информативности исследуемых показателей использовали метод построения ROC-кривых с определением площадей под кривыми (AUC).

### Результаты и обсуждение

Нами был определен диапазон нормальных значений TREC и KREC в контрольной группе здоровых детей (табл. 1).

Проведено ретроспективное исследование количественных значений TREC и KREC у пациентов с мутацией в гене АТМ.

АТ была диагностирована по совокупности клинических симптомов, наличию патогенных мутаций в гене АТМ. У 9 пациентов выявлены биаллельные мутации, у 5 выявлена одноаллельная гетерозиготная мутация и диагноз выставлен по наличию клинической картины АТ без наличия второй мутации по причине диагностической ограниченности метода капиллярного секвенирования [11]. Более подробная информация о значениях исследуемых показателей представлена в таблице 2.

АТ – это разновидность комбинированного типа иммунодефицита с вовлечением как Т-, так и В-клеточного иммунитета. Медиана количества субпопуляций лимфоцитов составила: CD3+ (%) Т-лимфоциты –  $47,55 \pm 13,4$  (норм. знач. 58-85), CD3+ ( $10^9$  г/л) Т-лимфоциты –  $0,71 \pm 0,42$  (норм. знач. 0,6-2,2), CD19+ (%) В-лимфоциты –  $10,8 \pm 9,28$  (норм. знач. 7-20), CD19+ ( $10^9$  г/л) В-лимфоциты –  $0,15 \pm 0,13$  (норм. знач. 0,1-0,5), ранние тимические мигранты (CD3+CD31+CD45RA+), (%) –  $3,45 \pm 14,1$  (норм. знач. 39-85). Медиана значений TREC составила 377,5 копий, KREC 336,0 копий на 1 млн лейкоцитов периферической крови.

Таким образом, проанализировав данные, полученные с использованием проточной цитометрии, Т-клеточная лимфопения была выявлена более чем у 40% пациентов, В-клеточная лимфопения – у 15% пациентов, в то время как тимические мигранты были низкими у 93% пациентов, так же, как и значения TREC и KREC в

**Таблица 1. Диапазон нормальных значений TREC и KREC у здоровых детей разных возрастных групп**

Возраст, годы (количество детей)	Количество TREC на 1 млн. лейкоцитов	Количество KREC на 1 млн. лейкоцитов
1–6 лет (n=6)	20000,0 (2700,3–23000,9)	5800,0 (1800,0–2399,1)
7–12 лет (n=25)	19000,0 (4299,6–6000,8)	7800,5 (1799,2–2500,4)
13–15 лет (n=9)	13000,0 (3300,0–55999,2)	4300,0 (2000,2–9778,8)

Примечание\* Данные представлены в виде медианы (2,5%;9,75%).

**Таблица 2. Характеристика пациентов с диагнозом «АТ»**

№	Возраст установки диагноза	Мутация	CD3+ %	CD3+ (10 <sup>9</sup> /л)	CD19+ %	CD19 (10 <sup>9</sup> г/л)	Тимические мигранты CD3+CD4+ CD45RA+ CD31+, %	TRECx10 <sup>6</sup> лейко- цитов	KRECx10 <sup>6</sup> лейко- цитов
1	7,0	p.E1978 Stop	<b>32,5</b>	0,72	11,1	0,24	<b>1,2</b>	<b>0</b>	<b>76</b>
2	2,2	c.4002-4005 del.CTTA	<b>46,6</b>	<b>0,53</b>	20,6	0,25	<b>3,2</b>	<b>2523</b>	<b>975</b>
3	4,2	c.4002-4005 del.CTTA	<b>41,0</b>	0,7	20,4	0,37	<b>2,4</b>	<b>367</b>	<b>518</b>
4	5,11	p.Y705Stop/p. L1814WfsTer14	<b>47,3</b>	0,85	8,7	0,15	<b>6,9</b>	<b>3621</b>	<b>118</b>
5	13,0	p.S2855R/p. S2855R	64,9	1,1	8,3	0,1	<b>2,6</b>	<b>388</b>	<b>0</b>
6	3,8	p.E2052K/c. 1564-1565 del GA	61,9	1,7	30,4	0,14	49,83	<b>1652</b>	<b>3547</b>
7	1,11	p.G1672AfsTer9/p.D1053Y	<b>39,1</b>	<b>0,27</b>	16,9	0,12	<b>1,61</b>	<b>45</b>	<b>1468</b>
8	15,10	p.T2666N/p. c.8584+2T->C	80,1	1,3	<b>2</b>	<b>0,03</b>	<b>2,1</b>	<b>62</b>	<b>0</b>
9	2,0	p.Glu 1978 Ter/p. S1383 Stop	<b>47,4</b>	1,42	10,5	0,3	<b>25</b>	10431	13451
10	9,11	p.E1978Stop/ c.7630-2 A->C	<b>38,6</b>	<b>0,35</b>	<b>1,9</b>	<b>0,02</b>	<b>2,1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
11	2,10	p.I1453KfsX36	57,7	<b>0,58</b>	8,1	0,14	<b>2,7</b>	<b>231</b>	<b>300</b>
12	5,11	p.E1978Stop/ c.5497-1 G->A	<b>54,1</b>	<b>0,59</b>	28,2	0,58	<b>1,39</b>	<b>0</b>	<b>372</b>
13	11,2	c.7307+1G->A	<b>47,7</b>	1,11	8,2	0,11	<b>3,3</b>	<b>3139</b>	<b>35</b>
14	4,8	p. Ser1383Stop/c. 4776+3 A->C	69,9	0,64	24,9	0,23	<b>24,3</b>	<b>2056</b>	<b>2168</b>

сравнении с диапазоном нормальных значений здоровых детей ( $<0,0001$ ) (рис. 1).

У 8 из 14 (57%) пациентов наблюдалось резкое снижение количества TREC  $<1000$  копий, в то время как KREC  $<1000$  копий было выявлено у 10 из 14 (72%) пациентов с АТ.

Согласно литературным данным, большинство ранних тимических мигрантов (CD4+CD3+CD45RA+CD31+) содержат TREC. Таким образом, TREC отражают тимический выход новообразованных Т-лимфоцитов [12, 13]. В нашем исследовании с использованием корреляционного анализа была установлена высокая степень взаимосвязи между уровнем тимических мигрантов и TREC ( $R_s=0,88$ ,  $p<0,01$ ). Между абсолютным и относительным количеством Т-лимфоцитов (CD3+) (%) и TREC значимой зависимости выявлено не было ( $R_s=0,48$ ,  $p=0,38$  и  $R_s=0,25$ ,  $p=0,67$  соответственно). Была выявлена сильная взаимосвязь абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов CD19+ и KREC ( $R_s=0,71$ ,  $p=0,04$  и  $R_s=0,78$ ,  $p=0,023$  соответственно).

Снижение уровней TREC и KREC описано та же в публикациях других исследователей: Boyarchuk O. et al., Kraus M. et al. и Schoenaker M. et al [14–16]. В своих исследованиях авторами так же продемонстрировано, что существует два возможных механизма, которые могут объяснить иммунологический дефект у пациентов с АТ – аномальное развитие Т- и В-лимфоцитов и нарушение периферической активации Т- и В-клеток.

В совокупности полученные результаты выявили нарушение гомеостатической пролиферации В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов у пациентов с АТ, что связано с преимущественным сокращением неогенеза Т- и В-клеток и отразилось в значимом снижении TREC и KREC соответственно.

Фундаментальными показателями точности диагностики являются чувствительность (т.е. истинно положительный результат) и специфичность (т.е. истинно отрицательный результат).

Нами была проведена оценка диагностической значимости определения TREC и KREC в диагностике АТ с использованием ROC-анализа (рис. 2).

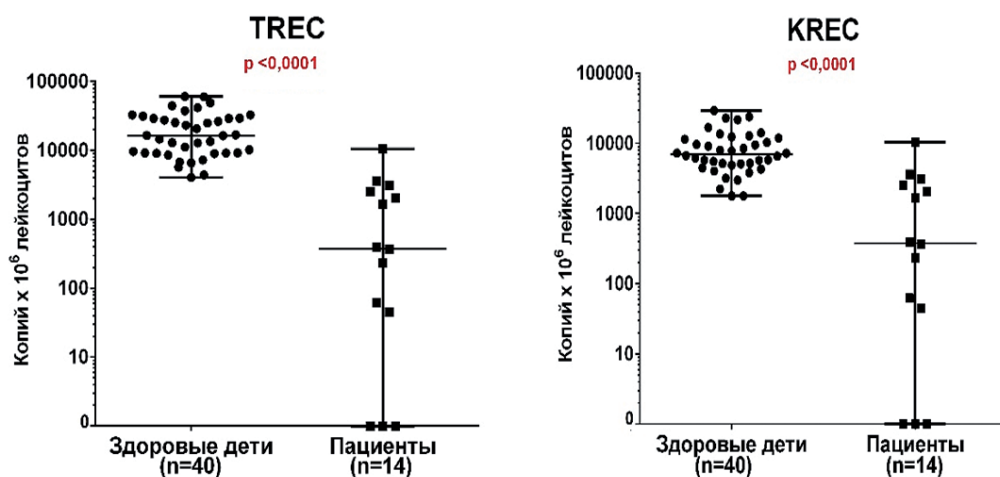


Рис. 1. Количество TREC и KREC у пациентов с АТ. Данные представлены в виде медианы, минимума-максимума значений

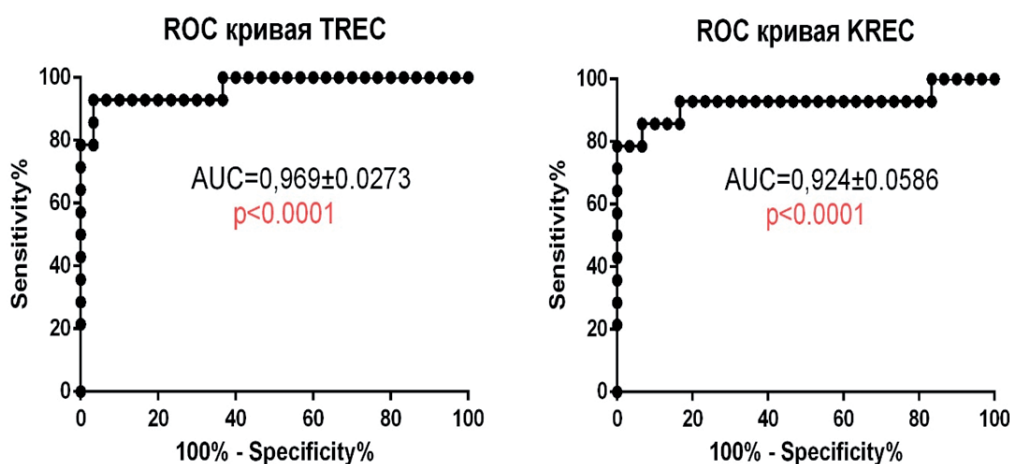


Рис. 2. ROC-кривые для TREC и KREC у пациентов с АТ

Самая высокая площадь под ROC-кривой была зарегистрирована для TREC ( $AUC_{0,915} 0,969_{1,023}$ ), с диагностической чувствительностью и специфичностью 92,8% и 93,4% соответственно, Площадь по ROC-кривой для KREC составила ( $AUC_{0,809} 0,924_{1,039}$ ) с диагностической чувствительностью 85,7% и специфичностью 96,7%. Полученные данные свидетельствуют о высокой диагностической значимости использования определения TREC и KREC у пациентов с АТ.

### Заключение

В своем исследовании мы установили низкие уровни TREC и KREC у пациентов с АТ, отражающие нарушение неогенеза Т- и В-клеток. Определена высокая диагностическая значимость метода определения TREC и KREC у пациентов с АТ, который может быть проведен до/вместо определения субпопуляционного состава лимфоцитов при подозрении у ребенка атаксии-телеангиэктазии.

### Литература

1. Rothblum-Oviatt C., Wright J., Lefton-Greif M.A. et al. Ataxia telangiectasia: A review. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2016; V.11: 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0543-7>.

2. Barmettler S., Coffey K., Smith M. J. et al. Functional Confirmation of DNA Repair Defect in Ataxia Telangiectasia (AT) Infants Identified by Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency (NBS SCID). Journal of Allergy

- and Clinical Immunology: In Practice. 2021; V. 9: 723-732. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.08.008>.
3. Amirifar P., Ranjouri M.R., Yazdani. et al. Ataxia-telangiectasia: A review of clinical features and molecular pathology. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2019; V 30: 277–288. <https://doi.org/10.1111/pai.13020>.
  4. Shibata A., Jeggo P.A. DNA Double-strand Break Repair in a Cellular Context. *Clinical Oncology*. 2014; V.26: 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2014.02.004>.
  5. Amirifar P., Ranjouri M.R., Lavin M. et al. Ataxia-telangiectasia: epidemiology, pathogenesis, clinical phenotype, diagnosis, prognosis and management. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2020; V.16: 859–871. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2020.1810570>.
  6. Shiloh Y. The cerebellar degeneration in ataxia-telangiectasia: A case for genome instability. *DNA Repair*, 95. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2020.102950>.
  7. Tiet M.Y., Horvath R., Hensiek A.E. Ataxia telangiectasia: What the neurologist needs to know. *Practical Neurology*. 2020; V.20: 404–414. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2019-002253>.
  8. Mandola A.B., Reid B., Sirror R. et al. Ataxia Telangiectasia Diagnosed on Newborn Screening—Case Cohort of 5 Years' Experience. *Frontiers in Immunology*. 2020; V.10: 1–7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02940>.
  9. van Zelm M.C., van der Burg M., Langerak A.W. et al. PID comes full circle: Applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders. *Frontiers in Immunology*. 2011; V.2: 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2011.00012>.
  10. Van Zelm M.C., Szczeпаński T., Van Der Burg M. et al. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *Journal of Experimental Medicine*. 2007; V.204: 645–655. <https://doi.org/10.1084/jem.20060964>.
  11. Белевцев М.В., Пугачёва В.В. Гурьянова И.Е. и др. Генетические дефекты у пациентов с первичными иммунодефицитами в Республике Беларусь. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. 2020; Т. 17, № 2: 221–236.
  12. Junge S., Kloeckener-Gruissem B., Zufferey R. et al. Correlation between recent thymic emigrants and CD31+ (PECAM-1) CD4+ T cells in normal individuals during aging and in lymphopenic children. *European Journal of Immunology*. 2017; V.37: 3270–3280. <https://doi.org/10.1002/eji.200636976>.
  13. Bains I., Thiébaud R., Yates A.J. et al. Quantifying Thymic Export: Combining Models of Naive T Cell Proliferation and TCR Excision Circle Dynamics Gives an Explicit Measure of Thymic Output. *The Journal of Immunology*. 2009; V.183: 4329–4336. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900743>.
  14. Kraus M., Lev A., Simon A.J. et al. Disturbed B and T cell homeostasis and neogenesis in patients with ataxia telangiectasia. *Journal of Clinical Immunology*. 2014; V. 34: 561–572. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0044-1>.
  15. Boyarchuk O., Makukh H., Kostyuchenko L. et al. TREC/KREC levels in children with ataxia-telangiectasia. *Immunologic Research*. 2021; V. 69: 436–444. <https://doi.org/10.1007/s12026-021-09216-1>.
  16. Schoenaker M.H.D., Blom M., de Vries M.C. et al. Early diagnosis of ataxia telangiectasia in the neonatal phase: a parents' perspective. *European Journal of Pediatrics*. 2020; V.179: 251–256. <https://doi.org/10.1007/s00431-019-03479-5>.

### Сведения об авторах

- Полякова Е.А. – научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований. ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». Адрес: 223053, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43. Тел.: 8 (017) 287-10-69. E-mail: polyakovakat86@gmail.com.
- Гурьянова И.Е. – заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: guryanovairina1985@gmail.com.
- Стёганцева М.В. – к.б.н., ведущий научный сотрудник исследований лаборатории генетических биотехнологий ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: Stsegantsevam@gmail.com.
- Шарапова С.О. – к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: sharapovasv@gmail.com.
- Сакович И.С. – научный сотрудник лаборатории иммунологических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: Inga.sakovich@mail.ru.
- Купчинская А.Н. – младший научный сотрудник лаборатории иммунологических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: kupchinskayaa@gmail.com.
- Алешкевич С.Н. – врач-детский гематолог-онколог ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: Svetlana\_alesh@mail.ru.
- Жаранкова Ю.С. – врач-детский иммунолог-аллерголог ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: marukovich85@mail.ru.
- Казак В.И. – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: vk250998@gmail.com.
- Володащук Т.П. – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: tvolodashchik@gmail.com.
- Белевцев М.В. – к.б.н., зам. директора по научной работе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». E-mail: belevtsev\_m@mail.ru.

Поступила 5.04.2022 г.