

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(23)

2020 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 27.04.20
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 200 экз.
Усл. печ. л. 23. Уч.-изд. л. 13,57.
Зак. 29.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веялкин (к.б.н., доцент), А.В. Воропаева (к.м.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), И.Н. Коляда (к.м.н.), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент), А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент), А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент),

Редакционный совет

Е.Л. Богдан (МЗ РБ, Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2020

№ 1(23)

2020

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

- Ю.В. Бондарева, А.В. Величко, Т.А. Величко
Анатомо-гистологические особенности строения паращитовидных желез (обзор литературы) 6
- А.Н. Котеров, Л.Н. Ушенкова, М.В. Калинина, А.П. Бирюков
Краткий обзор мировых исследований лучевых и нелучевых эффектов у работников ядерной индустрии 17
- М.И. Краснобаева, И.С. Соболевская, О.Д. Мяделец
Циркадные ритмы – как один из факторов регуляции биологии волосяных фолликулов (обзор литературы) 32
- О.В. Петкевич, З.А. Дундаров
Феномен транслокации кишечной микробиоты у умерших органных доноров (обзор литературы) 41
- С.А. Цуканова, А.В. Жарикова, А.Н. Цуканов, О.В. Кобылко, В.И. Ходулев
Патофизиологические механизмы дискогенных поясничных радикулопатий (Обзор литературы) 48

Медико-биологические проблемы

- И.В. Веялкин, Ю.В. Чайкова, С.Н. Никонич, Е.А. Дрозд, О.Ф. Сороко, О.Н. Захарова, С.В. Панкова, О.П. Овчинникова, И.П. Боровская
Оценка рисков для здоровья у работников Полесского государственного радиационно-экологического заповедника 59
- А.С. Владыко, Е.П. Счесленок, Е.Г. Фомина, Е.Е. Григорьева, Т.В. Школина, Н.А. Дубков, П.А. Семижон
Особо опасные парамиксовирусы Нипа и Хендра 66
- Н.А. Козелько, Е.В. Толстая
Взаимосвязь психологического состояния у подростков и предпочитаемых компьютерных игр 79

Reviews and problem articles

- Y.V. Bondareva, A.V. Velichko, T.A. Velichko
Anatomical and histological features of the structure of parathyroid glands (literature review) 6
- A.N. Koterov, L.N. Ushenkova, M.V. Kalinina, A.P. Biryukov
Brief review of world researches of radiation and non-radiation effects in nuclear industry workers 17
- M.I. Krasnobaeva, I.S. Sobolevskaya, O.D. Myadelets
Circadian rhythms - as one of the factors in the regulation of the biology of hair follicles 32
- O.V. Petkevich, Z.A. Dundarov
The phenomenon of intestinal microbiota translocation of deceased organ donors (review of literature) 41
- S.A. Tsukanova, A.V. Zharikova, A.N. Tsukanov, O.V. Kobylko, V.I. Hodulev
Pathophysiological mechanisms of lumbar disc radiculopathies [literature review] 48

Medical-biological problems

- I.V. Veyalkin, Yu.V. Chaykova, S.N. Nikonovich, E.A. Drozd, O.F. Soroko, O.N. Zakharova, S.V. Pankova, O.P. Ovchinnikova, I.P. Borovskaya
Health risk assessment for employees of the Polesky State Radiation-Ecological Reserve 59
- A.S. Vladyko, E.P. Scheslenok, E.G. Fomina, E.E. Grigorieva, T.V. Schkolina, N.A. Dubkov, P.A. Semizhon
Especially dangerous paramixoviruses Nipah and Hendra 66
- N.A. Kozelko, E.V. Tolstaya
The relationship of the psychological state in adolescents and preferred computer games 79

В.С. Костюнина, Е.В. Васина, Н.В. Гончарова, Н.В. Петёвка Закономерности развития гранулоцитарно-моноцитарного и мегакариоцитарного ростков миелопоэза CD34+ клеток пуповинной и периферической крови	86	V.S. Kostyunina, E.V. Vasina, N.V. Goncharova, N.V. Petyovka Developmental patterns of granulocyte-monocyte and megakaryocyte lineages from cord and peripheral blood CD34+ cells	
Т.А. Прокопенко, Н.И. Нечипуренко, А.Н. Батян, И.Д. Пашковская, А.П. Зажогин Морфологическая структура биожидкостей и про-, антиоксидантное состояние у пациентов с хронической ишемией мозга при использовании лазерной гемотерапии	94	T.A. Prokopenko, N.I. Nechipurenko, A.N. Batyan, I.D. Pashkovskaya, A.P. Zajogin Morphological structure of bioliquid and pro-, antioxidant state in patients with chronic cerebral ischemia under of laser hemotherapy	
Л.Н. Эвентова, А.Н. Матарас, Г.Н. Евтушкова, Н.Г. Власова Усовершенствование метода оценки доз облучения населения в ситуации существующего облучения после аварии на Чернобыльской АЭС	102	L.N. Eventova, A.N. Mataras, G.N. Evtushkova, N.G. Vlasova Improvement of the method for assessment of doses of exposed population in the current radiation situation after Chernobyl accident	
<i>Клиническая медицина</i>		<i>Clinical medicine</i>	
М.В. Белевцев, Е.А. Ласюков, М.Г. Шитикова, А.Н. Купчинская, Ю.Е. Марейко, Л.В. Мовчан, Т.В. Шман Особенности восстановления субпопуляций лимфоцитов у пациентов с первичными иммунодефицитами после аллогенной трансплантации гемопоэтической стволовой клетки	109	M.V. Belevtsev, J.A. Lasjukov, M.G. Shytikova, A.N. Kupchinskaya, J.E. Mareiko, L.V. Movchan, T.V. Shman Features of recovery of lymphocyte subpopulations in patients with primary immunodeficiency after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	
С.В. Зыблева Периферические дендритные клетки в диагностике ранней дисфункции почечного трансплантата	118	S.V. Zybleva Peripheral dendritic cells in the diagnosis of early allograft dysfunction	
Э.В. Могилевец, Л.Ф. Васильчук Лечение многократно рецидивирующего кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и желудка	123	E.V. Mahiliavets, L.F. Vasilchuk Consecutive approach in treatment of resistant bleeding from esophageal varices	
И.В. Орадовская, Т.Т. Радзивил Иммунный статус персонала Сибирского химического комбината при наличии хронических заболеваний	135	I.V. Oradovskaya, T.T. Radzivil Immune status of personnel of Siberian chemical plant in the presence of chronic diseases	

Н.Н. Усова, А.Н. Цуканов, Т.В. Дробова,
А.П. Савостин, В.В. Мельник

Бессимптомный синдром запястного
канала у женщин молодого возраста 148

Т.М. Шаршакова, В.А. Рожко, И.В. Веялкин
Комплексная организационно-меди-
цинская оценка формирования первич-
ной заболеваемости аутоиммунным
тиреоидитом в Республике Беларусь 154

Обмен опытом

В.Я. Латышева, А.Е. Филюстин,
Н.В. Юрашкевич, В.В. Рожин, Г.В. Коваль-
чук, А.А. Лапеко

Семиотика, диагностика и лечение
гнойного эпидурита. Клинические на-
блюдения 161

М.Г. Русаленко, В.В. Сукристый, И.Г. Сава-
стеева, С.В. Панкова

Распространенность хронических забо-
леваний по результатам диспансериза-
ции сотрудников ГУ «РНПЦ радиаци-
онной медицины и экологии человека» 169

Е.С. Пашинская

Способ культивации *Toxoplasma gondii*
на мышинной модели *in vivo* 176

Юбилей

Захарченко Михаил Петрович
(к 70-летию со дня рождения) 180

N.N. Usova, A.N. Tsukanov, T.V. Drobova,
A.P. Savostin, V.V. Melnik

Asymptomatic carpal tunnel syndrome in
young women

T.M. Sharshakova, V.A. Rozhko, I.V. Veyalkin
Integrated organizational and medical
estimation of primary incidence rates of
autoimmune thyroiditis in the Republic
of Belarus

Experience exchange

V.Ya. Latysheva, A.E. Filustin, N.V. Yurashk-
evich, V.V. Rozhin, G.V. Kovalchuk, A.A. La-
peko

Semiotics, diagnostics and treatment of
purulent epiduritis. Clinical cases

M.G. Rusalenko, V.V. Sukristy, I.G. Savastee-
va, S.V. Pankova

The prevalence of chronic diseases based on
the results of dispensary examination of em-
ployees of the Republican research center
for radiation medicine and human ecology

E.S. Pashinskaya

The method of cultivation of *Toxoplasma*
gondii in a mouse model *in vivo*

Jubilee

Zaharchenko Mihail Petrovich
(On the 70th anniversary)

УДК 616.155.392.14-089.819.843-
008.853.2:612.017.11

М.В. Белевцев, Е.А. Ласюков,
М.Г. Шитикова, А.Н. Купчинская,
Ю.Е. Марейко, Л.В. Мовчан, Т.В. Шман

ОСОБЕННОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ СТВОЛОВОЙ КЛЕТКИ

ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии», г. Минск, Беларусь

Обследовано 33 пациента с первичными иммунодефицитами, перенёвших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. Срок наблюдения составил 18 лет.

Выявлено, что восстановление количества лимфоцитов в периферической крови приближается к референтным значениям после 180 дня после аллоТГСК. Процентное содержание НК-клеток выше референтных значений до +180 дня, тогда как нормализация абсолютного содержания НК-клеток происходит после +60 дня. Процентное содержание В-клеток приближается к референтным значениям после +60 дня, абсолютное – после +100 дня после трансплантации. Процентное содержание Т-клеток достигает нормальных значений к +30 дню, однако абсолютное содержание этих клеток нормализуется только к +365 дню после аллоТГСК. Среди Т-клеток преобладают цитотоксические Т-лимфоциты и их процентное содержание находится выше референтных величин в течение года после аллоТГСК, абсолютное содержание временно нормализуется после +60 дня. Восстановление Т-хелперов, тимических мигрантов и Т-регуляторных клеток начинается после +100 дня, однако процентное и абсолютное содержание остаётся значительно ниже нормы и после года наблюдения. На протяжении всего времени наблюдения процентное соотношение клеток памяти Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов ведёт себя сбалансированно относительно друг друга до достижения референтных величин к 365 дню, а абсолютное количество наивных цитотоксических Т-лимфоцитов к 365 дню у некоторых пациентов превышает их. Анализ данных по восстановлению субпопуляций лимфоцитов периферической крови показывает необходимость динамического клинического и лабораторного контроля пациентов с ПИД, перенёвших аллоТГСК. В программу иммунологического мониторинга, помимо определения основных популяций лимфоцитов (В-, Т-лимфоцитов и НК), целесообразно включение определения минорных субпопуляций лимфоцитов, таких как Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты наивные и клетки памяти, тимические мигранты и Т-регуляторные клетки.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, первичные иммунодефициты, субпопуляции лимфоцитов, проточная цитометрия

Введение

Первичные иммунодефициты (ПИД) являются гетерогенной группой генетических заболеваний, поражающих звенья врожденного и приобретенного иммунитета. В настоящее время более чем с 420 генами связывают заболевания иммунной системы [1]. Не смотря на постоянное улучшение сопроводительной терапии

для пациентов с ПИД, единственной процедурой, за исключением генной терапии, позволяющей достигнуть выздоровления для большинства пациентов с ПИД, является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК). Первые аллоТГСК для пациентов с ПИД были проведены 50 лет назад [2, 3], при этом улучшение результатов транспланта-

ций для этой группы пациентов стало возможным после 2000 года [4]. В настоящее время вопросом дискуссий остаются показания для проведения аллоТГСК для различных групп иммунодефицитов, выбор донора, проведение манипуляций с трансплантатом и эффективность восстановления иммунной системы [5].

Цель работы – оценить восстановление субпопуляций лимфоцитов периферической крови после аллоТГСК.

Материал и методы исследования

В группу исследования вошли 33 пациента (23 мальчика / 10 девочек) в возрасте от 3 месяцев до 21 года (медиана возраста 2,74 (1,9-6,06) с первичным иммунодефицитом с проведенной аллоТГСК в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии с 2000 по 2018 годы. Группа представлена пациентами с тяжёлыми комбинированными иммунодефицитами (ТКИН) (n=12), хронической гранулематозной болезнью (ХГБ) (n=4), врожденной нейтропенией (n=3), дефицитом LAD1 (n=1), синдромом Вискотта-Олдрича (n=5), синдромом Ниймегена (n=5), гемафагоцитарным лимфогистиоцитозом (n=3).

В группу сравнения вошли здоровые дети в возрасте от 2 месяцев до 18 лет (n=71).

Определение состояния клеточного звена иммунитета пациентов с аллоТГСК проводили методом проточной цитофлуориметрии в различные сроки до (за 7-10 дней перед аллоТГСК) и после трансплантации (+30, +60, +100, +180 и +365 дней). Для этого образец периферической крови (ПК) в объеме 3-5 мл набирали в пробирку, содержащую калий ЭДТА в качестве антикоагулянта. По 100 мкл ПК помещали в пробирку для проточной цитометрии и добавляли моноклональные антитела (МАТ), в следующих комбинациях: CD3/CD8/CD45/HLADR/CD4, CD3/CD16+CD56/CD45/CD19, меченных FITC/PE/PerCP/APC/PE-Cy7, в количествах, согласно инструкции фирмы-производителя.

Для углубленного анализа субпопуляций Т-клеток использовали различные

комбинации МАТ. Для анализа количества наивных и Т-клеток памяти, а также тимических мигрантов использовали следующую панель антител: CD45RA/CD31/CD4/CD3, меченных FITC/PE/PE-Cy5/PE-Cy7. Для анализа количества Т-регуляторных клеток использовали панель антител CD4/CD127/CD25, меченных FITC/PE/PE-Cy5.

Образцы тщательно перемешивали и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 20 минут. После инкубации проводили лизирование эритроцитов по безотмывочной технологии с использованием набора ImmunoPrep Reagent System на станции пробоподготовки TQprep (Beckman Coulter). Учет и анализ результатов проводили на цитофлуориметрах FC 500 и Navios в программах CXP и Kaluza (Beckman Coulter).

По экспрессии CD45 выделяли регион лимфоцитов или по показателям прямого (FSC) и бокового светорассеивания (SSC) в пробах без CD45. В пределах этого региона рассчитывали процент субпопуляций лимфоцитов: В-клеток по экспрессии CD19+; НК-клеток – по CD3-CD56+CD16+; Т-клеток – по CD3+; Т-хелперов – по CD3+CD4+; Т-цитотоксических клеток – по CD3+CD8+; активированных Т-клеток – по CD3+HLADR+ и CD4+CD25+; НКТ-клеток – по CD3+CD56+CD16+. Дополнительно анализировали количество наивных Т-хелперов по фенотипу CD3+CD4+CD45RA+, наивных цитотоксических Т-клеток – CD3+CD4-CD45RA+, тимических мигрантов – CD3+CD4+CD45RA+CD31+, регуляторных Т-клеток – CD4+CD25+CD127-/low. Далее рассчитывали абсолютные показатели для всех изучаемых субпопуляций на основании данных содержания лейкоцитов и процента лимфоцитов среди них в общем анализе крови или с использованием частиц для абсолютного подсчета.

Для математической обработки данных использовали программы Microsoft Excel, Statistica 6.0 и GraphPad Prism 8. Результаты представлены в виде значений медианы и диапазона (минимум – максимум), на гра-

фиках данные представлены в виде средних значений и 95 % доверительного интервала.

Результаты исследования

Первая аллогенная ТГСК для пациентов с ПИД в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии была проведена в 2000 года пациенту с хронической гранулематозной болезнью. С 2000 года по 2018 год аллогенные ТГСК были проведены для 33 пациентов с ПИД. В таблице 1 представлена общая характеристика пациентов и проведенных ТГСК.

Для исследуемой группы медиана возраста пациентов на момент постановки диагноза составила 1,4 года (1 месяц – 21 год), медиана времени от диагностики ПИД до проведения аллоТГСК составила 1,1 года (1 месяц – 7,6 лет).

Приживление трансплантата было достигнуто у 31 из 33 пациентов. Медиана достижения уровня лейкоцитов $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$ приходилась на 19 (7-58) день, восстановление нейтрофилов $\geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$ – на 21 (7-64) день, тромбоцитов $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ – на 20 (0-93) день.

Далее были проанализированы показатели иммунологического восстановления для 28 пациентов в течение первого года после аллоТГСК (в анализ не вошли данные 9 пациентов, которые умерли в течение первых 130 дней после трансплантации, и одного пациента, у которого не было приживления донорского трансплантата). Данные анализа представлены на рисунках 1-3, где серая зона отражает диапазон референтных значений, полученных для группы здоровых детей.

На рисунке 1 представлены данные восстановления лейкоцитов и лимфоцитов.

Из представленных на рисунке 1 данных виден широкий индивидуальный диапазон показателей лейкоцитов и лимфоцитов после аллоТГСК. В общем для исследуемой группы пациентов показатели восстановления лимфоцитов приближаются к референтным значениям после 180 дня.

На рисунке 2 представлены показатели восстановления основных популяций лимфоцитов.

Таблица 1 – Характеристика пациентов и проведенных ТГСК

Характеристики	Количество
Все пациенты	33
Пол	23 мальчика / 10 девочек
Возраст на момент трансплантации, медиана (мин-макс)	3 года (3 месяца – 21 год)
Диагноз	
ТКИНКИН	12
ХГБ	4
Врожденная нейтропения	3
Дефицит LAD1	1
Синдром Вискотта-Олдрича	5
Синдром Ниймеген	5
Гемафагоцитарный лимфогистиоцитоз	3
Тип выполненной трансплантации	
Родственная совместимая	7
Родственная несовместимая (гаплоидентичная)	4
Неродственная совместимая	18
Неродственная несовместимая	4
Режимы кондиционирования	
RIC	25
MAC	7
Без кондиционирования	1
Источник стволовой клетки	
Костный мозг	20
Периферическая стволовая клетка	6
Пуповинная кровь	7
Характеристика трансплантата	
Общая клеточность трансплантата, $\times 10^8$, медиана (мин-макс)	4,1 (0,14-12,2)
Доза CD34+ клеток, $\times 10^6$, медиана (мин-макс)	6,0 (0,26-18,0)
Манипуляции с клеточным составом трансплантата	
Без манипуляций	29
Селекция CD34+ клеток	2
Деплеция В-клеток и TCR $\alpha\beta$	2
Т-клеток	

Согласно представленным на рисунке 2 данным видно, что содержание В-клеток имеет резкое снижение на период +30 дней, с тенденцией к увеличению этого показателя наблюдается после +60 дня с дальнейшим ростом за все время наблюдения, абсолютное значение приближается к референтным величинам после +100 дня

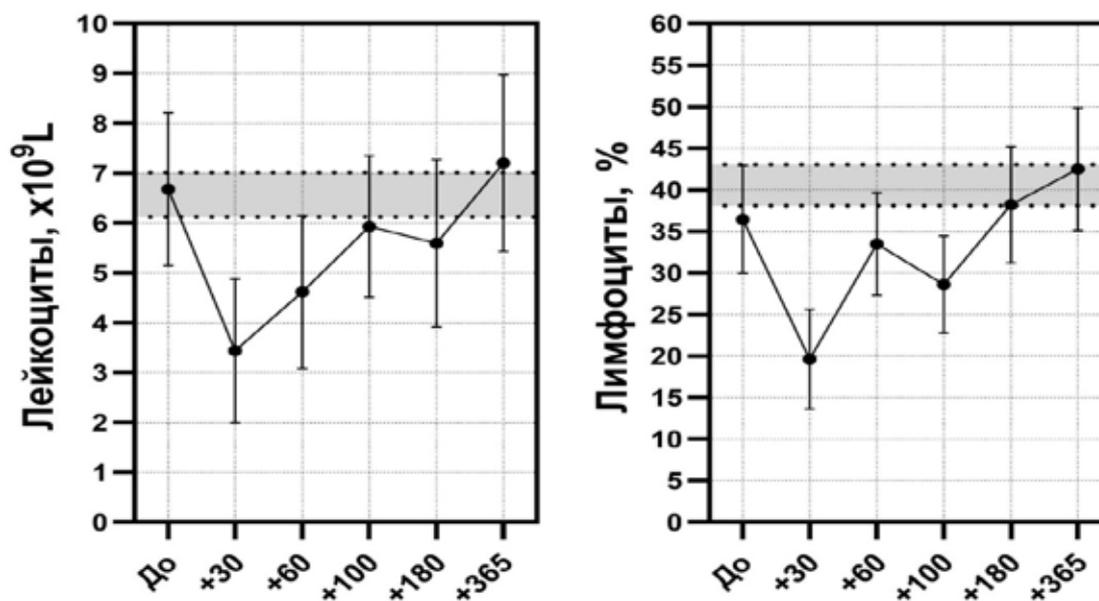


Рисунок 1 – Восстановление лейкоцитов и лимфоцитов после аллоТГСК у детей с ПИД

после трансплантации. Процентное содержание НК-клеток (ЕК) выше референтных значений до +180 дня, тогда как нормализация абсолютного содержания НК-клеток происходит после +60 дня. Процентное содержание Т-клеток достигает референтных значений к +30 дню с дальнейшим снижением показателей, в то время как абсолютное содержание этих клеток нормализуется только к +365 дню после аллоТГСК.

В результате анализа динамики восстановления уровней лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов было установлено, что пациенты с отдельными нозологиями ПИД, такими как ХГБ, синдром Неймегена и Вискотт-Олдрич синдром, имеют схожую между собой тенденцию восстановления субпопуляционного состава лимфоцитов. В связи с этим и небольшим числом пациентов в группах данные были объединены для дальнейшего анализа.

На рисунке 3 представлены показатели восстановления субпопуляций Т-клеток.

После аллоТГСК среди Т-клеток преобладают цитотоксические Т-лимфоциты и их процентное содержание находится выше референтных значений в течение года после аллоТГСК, тогда как кратковременная нормализация абсолютного содержания наблюдается после +60 дня. Динамика восстановления Т-хелперов на-

чинается после +100 дня, однако процентное и абсолютное содержание Т-хелперов значительно ниже нормы до +365 дня.

Для части пациентов с 2009 года проводились исследования минорных субпопуляций лимфоцитов. На рисунке 4 показана динамика отдельных популяций.

Примечание: красная линия – CD45RA+клетки (наивные), синяя линия – CD45RO+клетки (клетки памяти).

На рисунке 4 можно увидеть, что восстановление CD4+Т-клеток замедлено относительно CD8+Т-клеток. Абсолютное и относительное количество CD3+CD4+CD45RA+ клеток (наивные Т-хелперы) за первый год не достигает референтных значений, в то время как абсолютное количество CD3+CD8+CD45RA+ (наивные цитотоксические Т-лимфоциты) к 365 дню у некоторых пациентов превышает их. Особенности динамики количества наивных цитотоксических Т-лимфоцитов при учёте дополнительных параметров частично объясняются гетерогенностью условно «наивной» субпопуляции, а также позволяют предположить внемичический генез этих клеток. На протяжении всего восстановления процентное соотношение клеток CD3+CD8+CD45RO+ (Т-цитотоксические клетки памяти) и CD3+CD4+CD45RO+ (Т-хелперы памяти)

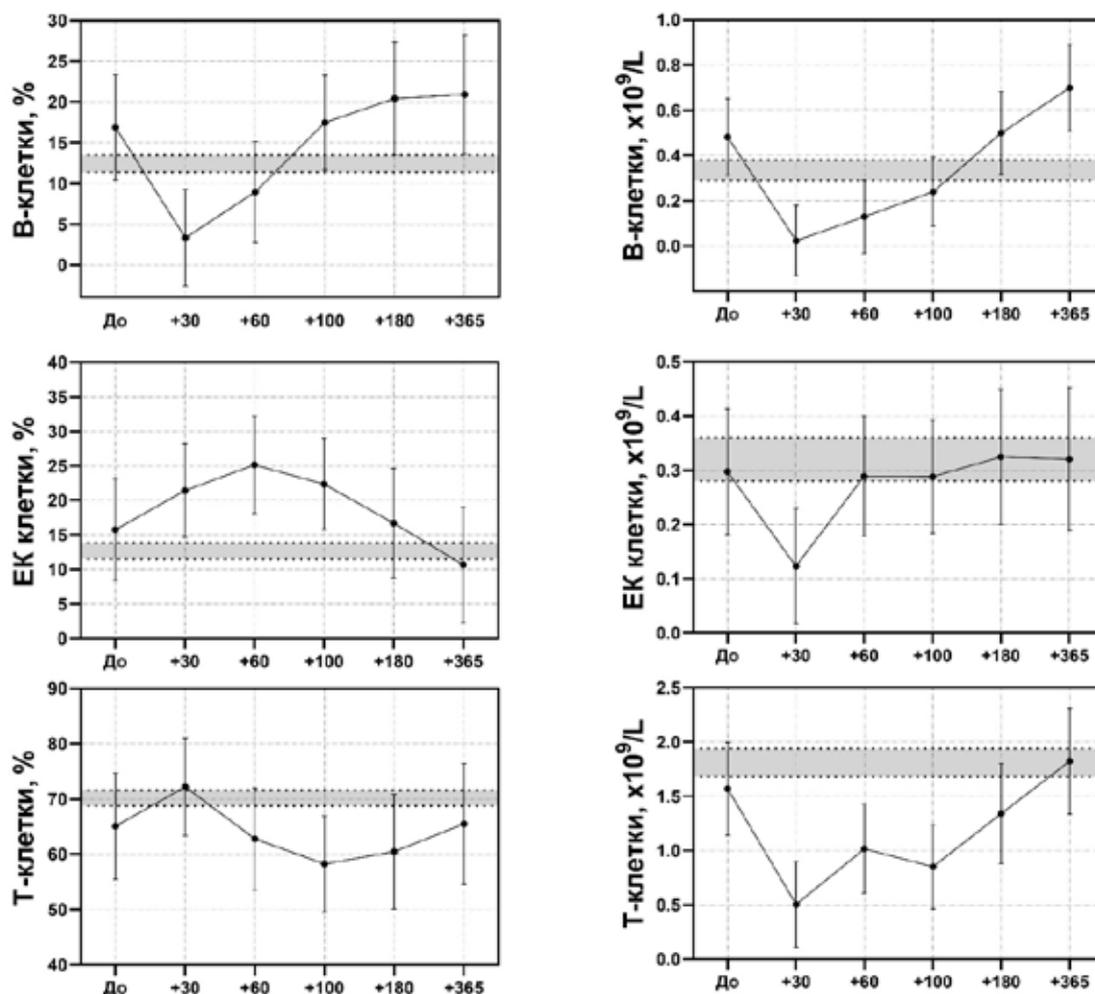


Рисунок 2 – Показатели восстановления основных субпопуляций лимфоцитов после аллоТГСК у детей с ПИД

ведет себя сбалансированно относительно друг друга до достижения референтных величин к 365 дню.

Рост тимических мигрантов начинается в интервале между 100-ым и 180-ым днём. В этот же период отмечается рост абсолютного количества Т-регуляторных клеток и наивных Т-хелперов, что позволяет предположить тимический генез данных субпопуляций. Но достижения уровней референтных значений этих показателей не наблюдается и после года наблюдения.

Таким образом, у перенёсших аллоТГСК пациентов с ПИД в течение первого года после трансплантации до референтных значений восстанавливается абсолютное количество НК-клеток и В-клеток.

Абсолютное количество Т-клеток нормализуется к +365 дню, однако по результатам дополнительных тестов видно, что субпопуляции тимических мигрантов, Т-регуляторных клеток и Т-хелперов полностью не восстановились.

Среди 33 трансплантированных пациентов 9 умерли и вероятность общей выживаемости составила $0,64 \pm 0,1$. Медиана смертей приходилась на 170 день (от 13 до 853 дня), 5 пациентов умерли в течение первых 130 дней. Причинами смертей были: смерть в индукции ($n=1$), смерть в результате неприживления, отторжения или вторичной недостаточности трансплантата ($n=5$), инфекций ($n=2$) или других осложнений ($n=2$).

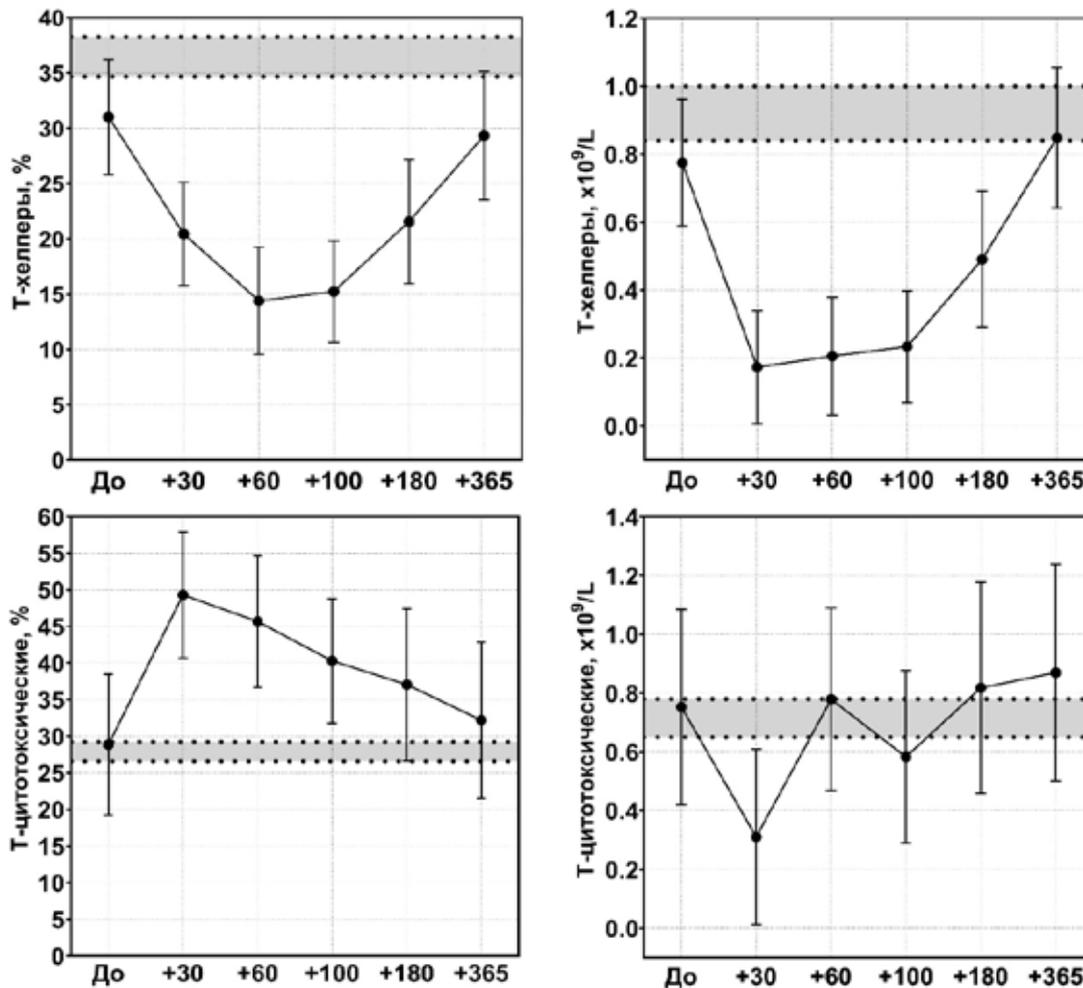


Рисунок 3 – Показатели восстановления субпопуляций Т-лимфоцитов после аллотГСК у детей с ПИД

Обсуждение результатов

ПИД – гетерогенная группа заболевания, характеризующая тяжёлыми повторяющимися инфекциями, повышенным риском развития онкологических и аутоиммунных болезней. Даже при применении немиелоаблативных протоколов кондиционирования у большинства пациентов гемопоэз не восстанавливается до значений, наблюдаемых у клинически здоровых людей [6]. По результатам нашего исследования это особенно заметно по динамике восстановления Т-клеточного звена иммунитета.

По данным Sung-Yan et al. на восстановление иммунитета после трансплантации у пациентов с ТКИН влияет тип трансплантации. Реципиенты, получившие трансплантат от совместимого родственного донора, имеют значительно лучшие

показатели восстановления Т-клеточного звена иммунитета, нежели реципиенты, получившие трансплантат от несовместимого родственного донора или совместимого неродственного донора. Кроме того, у реципиентов с ТКИН, имевших фенотип В+, активность восстановления Т-клеток значительно лучше, чем у реципиентов с фенотипом В- или Вlow. Отсутствие инфекций на момент трансплантации является важным прогностическим критерием. Пациенты без перенесённых инфекций в анамнезе имели значительно лучшие показатели динамики восстановления иммунитета. У пациентов после RIC или MAC наблюдается повышенный прирост CD4+CD45RA+ наивных Т-клеток относительно пациентов, не подвергавшихся кондиционированию [7].

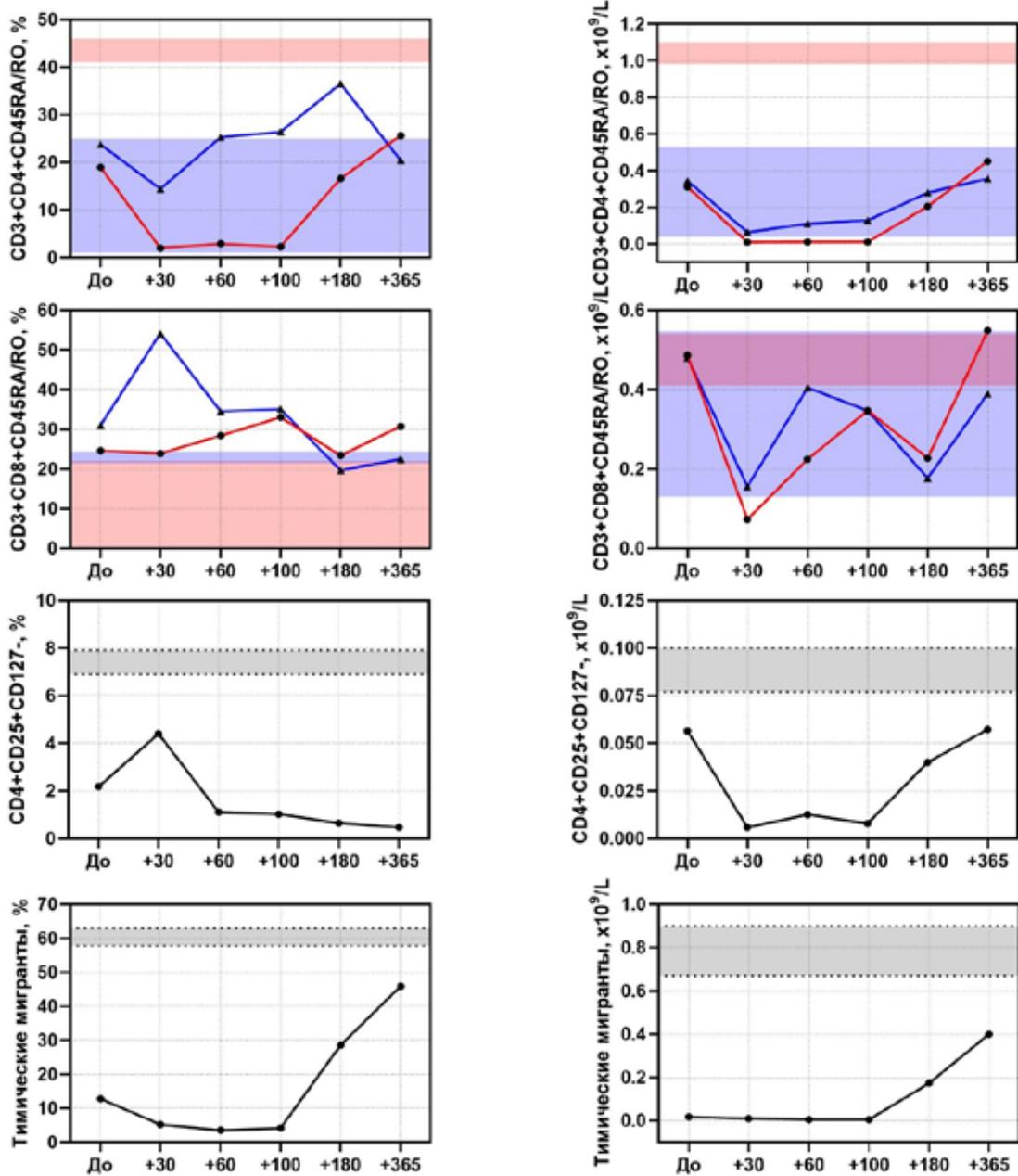


Рисунок 4 – Показатели восстановления минорных субпопуляций лимфоцитов после аллоТГСК у детей с ПИД

По данным Moratto et al. пациенты с синдромом Вискотта-Олдрича лучше восстанавливаются после трансплантации, нежели пациенты с ТКИН. Бессобытийная двухлетняя выживаемость для пациентов с синдромом Вискотта-Олдрича составляет около 75%. Однако такие пациенты, как и пациенты с ХГБ, имеют повышенную предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям ввиду особенности мутаций [8].

В исследовании Yanir et al. описано, что использование повышенных доз алемтузумаба в составе протокола кондиционирования при ТГСК для пациентов с ХГБ приводит к значительному росту частоты развития аутоиммунных заболеваний. К сожалению, в работе Yanir et al. на основе стандартных иммунограмм корреляции между восстановлением субпопуляций лимфоцитов

и развитием аутоиммунных патологий найдено не было [9].

В работе Wolska-Kusmierz et al. отмечается, что негативными прогностическими критериями для пациентов с синдромом Ниймегена являются снижение соотношения CD4+/CD8+ Т-лимфоцитов, преобладание CD45RO+ относительно CD45RA+ Т-хелперов, повышенное содержание TCR $\gamma\delta$ Т-клеток и слабый ответ клеток в реакции бласттрансформации [9].

Выводы

В ходе проведённого исследования определено, что в исследуемой группе пациентов показатели восстановления лимфоцитов приближаются к референтным значениям после 180 дня. Процентное содержание NK-клеток выше референтных значений до +180 дня, тогда как нормализация абсолютного содержания NK-клеток происходит после +60 дня. Процентное содержание В-клеток приближается к референтным значениям после +60 дня, абсолютное – после +100 дня после трансплантации. Процентное содержание Т-клеток достигает нормальных значений к +30 дню, однако абсолютное содержание этих клеток нормализуется только к +365 дню после аллотГСК.

Среди Т-клеток преобладают цитотоксические Т-лимфоциты и их процентное содержание находится выше референтных величин в течение года после аллотГСК, абсолютное содержание кратковременно нормализуется после +60 дня. Восстановление Т-хелперов начинается после +100 дня, однако процентное и абсолютное содержание Т-хелперов остаётся значительно ниже нормы до 365 дня. Абсолютное и относительное количество наивных Т-хелперов за первый год не достигает референтных величин, в то время как количество наивных Т-цитотоксических клеток к +365 дню у некоторых пациентов превышает их. На протяжении всего восстановления процентное соотношение Т-хелперов и цитотоксических клеток памяти ведет себя сбалансиро-

ванно относительно друг друга до достижения референтных величин к 365 дню.

Рост тимических мигрантов и Т-регуляторных клеток начинается в интервале между 100-ым и 180-ым днём, но без достижения уровней референтных значений и после года наблюдения.

Анализ данных по восстановлению субпопуляций лимфоцитов периферической крови показывает необходимость динамического клинического и иммунологического контроля пациентов с ПИД, перенёвших аллотГСК. В программу иммунологического мониторинга, помимо определения основных популяций лимфоцитов (В-, Т-лимфоцитов и NK), целесообразно включение определения минорных субпопуляций лимфоцитов, таких как Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты наивные и клетки памяти, тимические мигранты и Т-регуляторные клетки.

Библиографический список

1. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity / С. Picard [et al.]. – J. Clin. Immunol. – 2018. – Vol. 38. – P. 96-128. DOI: 10.1007/s10875-017-0464-9.
2. Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome / FH. Bach [et al.]. – Lancet. – 1968. – Vol 292, Issue 7583. – P. 1364-1366. DOI: doi.org/10.1016/S0140-6736(68)92672-X.
3. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency / RA. Gatti [et al.]. – Lancet. – 1968. – Vol.292, Issue 7583. – P. 1366-1369. DOI: doi.org/10.1016/S0140-6736(68)92673-1.
4. Transplantation of hematopoietic stem cells and long-term survival for primary immunodeficiencies in Europe: Entering a new century, do we do better? / AR Gennery [et al.]. – J Allergy Clin Immunol. – 2010. – Vol.126, Issue 3. – P. 602-610. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.06.015.
5. Stem cell transplantation for the treatment of immunodeficiency in children: current status and hopes for the future / С. Booth

- [et al.]. – Expert Review of Clinical Immunology. – 2016. – Vol.12, Issue 7. – P.713-723. DOI: 10.1586/1744666X.2016.1150177.
6. Chiesa, R. Reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplant in primary immune deficiencies / R. Chiesa, P. Veys. – Expert Review of Clinical Immunology. – 2012. – Vol. 8, Issue 3. – P.255-267. DOI: 10.1586/eci.12.9.
7. The Different Extent of B and T Cell Immune Reconstitution after Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Enzyme Replacement Therapies in SCID Patients with Adenosine Deaminase Deficiency / F. Serana [et al.]. – The Journal of Immunology. – 2010. – Vol. 185, Issue 12. – P.7713-7722. DOI: 10.4049/jimmunol.1001770.
8. High Incidence of Autoimmune Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Chronic Granulomatous Disease / AD Yanir [et al.]. – Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2018. – Vol. 24, Issue 8. – P. 1643-1650. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.03.029.
9. Nijmegen Breakage Syndrome: Clinical and Immunological Features, Long-Term Outcome and Treatment Options – a Retrospective Analysis / B. Wolska-Kuśnierz [et al.]. – Journal of Clinical Immunology. – 2015. – Vol 35 – P. 538-549. DOI: 10.1007/s10875-015-0186-9.

**M.V. Belevtsev, J.A. Lasjukov, M.G. Shytikova, A.N. Kupchinskaia,
J.E. Mareiko, L.V. Movchan, T.V. Shman**

**FEATURES OF RECOVERY OF LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS
IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY AFTER
ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION**

33 patients with primary immunodeficiency (PID) who underwent hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) were examined. The follow-up period was 18 years.

It was found that the recovery of the number of lymphocytes in the peripheral blood is approaching the reference values after 180 days after alloHSCT. The percentage of NK cells is higher than the reference values before +180 days, while the normalization of the absolute content of NK cells occurs after +60 days. The percentage of B cells approaches the reference values after +60 days, the absolute value-after +100 days after transplantation. The percentage of T cells reaches normal values by +30 days, but the absolute content of these cells is normalized only by +365 days after alloHSCT. Among T-cells, cytotoxic T-lymphocytes predominate and their percentage is higher than the reference values for a year after alloHSCT, the absolute content is briefly normalized after +60 days. Recovery of T-helper cells, thymic migrants and T-regulatory cells begins after +100 days, but the percentage and absolute content remains significantly below the norm even after a year of observation. During the entire observation period, the percentage of memory cells of T-helper cells and cytotoxic T-lymphocytes behaves in a balanced manner relative to each other until the reference values are reached by day 365, and the absolute number of naïve cytotoxic T-lymphocytes exceeds them by day 365 in some patients. Analysis of data on recovery of peripheral blood lymphocyte subpopulations shows the need for dynamic clinical and laboratory control of patients with PID who have undergone alloHSCT. In addition to determining the main populations of lymphocytes (B-, T-lymphocytes, and NK), it is advisable to include the definition of minor subpopulations of lymphocytes, such as T-helper and cytotoxic T-lymphocytes naïve and memory cells, thymic migrants and T-regulatory cells in the immunological monitoring programme.

Key words: *hematopoietic stem cell transplantation, primary immunodeficiency, lymphocyte subpopulations, flow cytometry*

Поступила 10.03.2020