

Васильева Вера Алексеевна

**«Циркулирующие эндотелиальные клетки и популяция Т-хелперов
17-го типа на ранних сроках после трансплантации аллогенных
гемопозитических стволовых клеток»**

14.01.21 - Гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук **Паровичникова Елена Николаевна**

Официальные оппоненты:

Семочкин Сергей Вячеславович – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Масчан Михаил Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины.

Ведущая организация:

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2018 года в ___ часов
на заседании диссертационного совета Д 208.135.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.blood.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2018 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Сысоева Елена Павловна

Введение

Актуальность проблемы

Ключевым условием для успешной реализации аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является освобождение гемопоэтических ниш хозяина и реконституция донорского гемопоэза на фоне индуцированной иммунологической толерантности к тканям и органам хозяина.

В результате цитостатического воздействия различной интенсивности происходит гибель гемопоэтических клеток хозяина и освобождение костномозговых ниш, которые представлены клетками миелоидной и лимфоидной линий, адипоцитами, остеобластами, ретикулоцитами, мезенхимными клетками, эндотелиальными клетками и сосудами системы микроциркуляции [Sugiyama T. et al., 2012].

Тканевое повреждение является одним из самых важных звеньев развития такого патофизиологического процесса после алло-ТГСК, как острая реакция трансплантата против хозяина (РТПХ). Острая РТПХ (oРТПХ) является наиболее грозным осложнением алло-ТГСК, частота развития которого зависит от многих факторов: заболевание, при котором выполнена алло-ТГСК, возраст больного, различие по полу донора и реципиента, режим кондиционирования, источник трансплантата, вариант иммуносупрессивной профилактики и, конечно, совместимость пары донор-реципиент по генам главного комплекса гистосовместимости (HLA).

Патогенетическими этапами развития oРТПХ являются: массивное эпителиальное и эндотелиальное повреждение вследствие высокодозного циторедуктивного воздействия во время предтрансплантационной подготовки. Повреждение эндотелия после цитостатического воздействия было выявлено как с помощью определения косвенных маркеров (повышение содержания фактора Виллебранда, тромбомодулина, тканевого фактора, эндотелина-1 и других маркеров), так и прямых (значимое увеличение количества циркулирующих эндотелиальных клеток) [Моисеев И.С. 2013, Червонцева А.М. 2008, Lin Y. et al., 2000, Salat C. et al., 1997, Woywodt A. et al., 2004, Yan Z. et al., 2011]. Вышеописанные процессы приводят к значительной продукции воспалительных цитокинов и увеличению экспрессии молекул адгезии на Т-клетках, а в последующем – и на эндотелиальных клетках. Вследствие этого происходит активация антигенпрезентирующих клеток хозяина и пролиферация донорских Т-клеток (афферентная фаза) и, наконец, высвобождение провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1, фактор некроза опухоли, ведущих к повреждению тканей (эфферентная фаза) [Ferrara J.L. et al., 1999]. Наиболее значимыми участниками этого патологического процесса являются популяции Т-

хелперов (Th): 1, 2, 17 и 22 типов. Субпопуляция Т-хелперов 17-го типа (Th17) стала изучаться сравнительно недавно, и роль этих клеток в инициации или контроле РТПХ еще не полностью определена [Carlson M.J. et al., 2009, Coghill J.M. et al., 2009, Liu Y. et al., 2013, Pan B. et al., 2014, Serody J.S. et al., 2012]. Известно, что при аутоиммунных заболеваниях Th17 являются ключевыми участниками воспалительного процесса [Barczyk A. et al., 2009, Hwang S.-Y. et al., 2009, Kurasawa K. et al., 2000, Lindén A. 2001, Miossec P. 2003, Singh R. et al., 2007, Tesmer L.A. et al., 2008, Wong C.K. et al., 2000] и характеризуются высокой экспрессией молекулы адгезии CD146, причем число этих клеток коррелирует со степенью тяжести патологического процесса [Dagur P.K. et al., 2011].

Взаимодействие Т-клеток донора и антигенов тканей хозяина происходит после их контакта с эндотелием. CD146, или MCAM (молекула адгезии клеток меланомы), является одной из многих универсальных молекул адгезии и межклеточного взаимодействия [Flanagan K. et al., 2012]. MCAM определяется на многих клетках организма (эндотелиальные клетки, клетки гладкой мускулатуры, шванновские клетки, клетки нервных ганглиев, миофибробласты, клетки коры мозжечка, клетки молочных протоков, клетки эпителия бронхов и парашитовидных желез, мезенхимные клетки костного мозга). MCAM выявляется и на активированных натуральных киллерах (НК), моноцитах, части Т- и В-клеток-памяти и на Th17 [Despoix N. et al., 2008, Elshal M.F. et al., 2005 Guezguez B. et al., 2007].

Исследование корреляций между объемом эндотелиального повреждения и реконституцией одного из ключевых регуляторов иммунной системы – Th-17, явилось целью данной работы.

Цель исследования

Изучить динамику количества циркулирующих эндотелиальных клеток и Т-хелперов 17-го типа у больных с заболеваниями системы крови на ранних этапах после аллогенной ТГСК (до +100 дня) в зависимости от режима кондиционирования, варианта иммуносупрессивной терапии и вероятности развития острой РТПХ.

Задачи исследования

1. Проанализировать влияние режима кондиционирования и варианта иммуносупрессивной терапии на динамику популяции циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК CD34+/CD45-/CD146+) в периферической крови больных на ранних сроках после алло-ТГСК (день 0, +10, день восстановления уровня гранулоцитов, дни +30, +60, +90);

2. Оценить степень воздействия режима кондиционирования, варианта иммуносупрессивной терапии на изменение доли Th17 клеток (CD4+/CD45RO+/CD146+) в популяции всех CD4+ клеток периферической крови, а также экспрессию молекулы MSAM на этих клетках у больных на ранних этапах после алло-ТГСК;
3. Выполнить мониторинг CD34-позитивных клеток-предшественниц на ранних этапах после алло-ТГСК и выявить изменение их процентного содержания в зависимости от режима кондиционирования, варианта иммуносупрессивной терапии;
4. Оценить изменение количества циркулирующих эндотелиальных клеток, доли Th17 клеток, CD34-позитивных клеток-предшественниц у больных после аллогенной ТГСК (день 0, +10, день восстановления уровня гранулоцитов, дни +30, +60, +90) в зависимости от развития ОРТПХ.
5. Оценить эффективность трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток у больных, включенных в исследование, вероятность развития ОРТПХ в зависимости от диагноза, режима кондиционирования, источника трансплантата, типа донора, варианта иммуносупрессивной терапии.

Научная новизна

Впервые было выполнено динамическое исследование с очень ранним – на +10 день - подсчетом фракции Т-хелперов 17-го типа среди популяции CD4+ клеток с параллельной оценкой объема эндотелиального повреждения и количества CD34-позитивных предшественников у больных после алло-ТГСК. Именно исследования в самые ранние сроки позволили выявить неописанную ранее закономерность: у больных с развившейся впоследствии ОРТПХ на +10 день было отмечено достоверно более низкое количество циркулирующих эндотелиальных клеток, значимое увеличение количества CD34-позитивных предшественников и достоверно значимый постепенный прирост доли Т-хелперов 17-го типа с +30 к + 90 дню с существенным увеличением интенсивности экспрессии молекулы MSAM на них.

Практическая значимость

В ходе проведенного исследования была выявлена исключительно высокая частота развития ОРТПХ у больных, которым алло-ТГСК выполнена от частично совместимых доноров на фоне стандартной иммуносупрессивной терапии (ИСТ). В связи с этим, с 2014 г. таким больным осуществляют введение циклофосфамида (ЦФ) в дозе 50 мг/кг на +3, +4 дни после алло-ТГСК.

Определение ЦЭК на сверхранних этапах после алло-ТГСК (+10 день) может повлиять на изменение тактики иммуносупрессивной терапии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Изменения в популяции ЦЭК зависят от варианта кондиционирования и факта развития оРТПХ. У больных после миелоаблативного режима кондиционирования отмечалось достоверное увеличение количества ЦЭК в день алло-ТГСК ($p=0,026$). У пациентов без оРТПХ на +10 и +30 дни определялось достоверно большее количество ЦЭК (+10 день – 124 кл/мл, +30 день – 33,8 кл/мл), чем у больных с оРТПХ (+10 день – 12,5 кл/мл, +30 день – 0,9 кл/мл) ($p=0,037$, $p=0,017$, соответственно);

2. Повышение относительного содержания Th17 в популяции CD4+ клеток и высокий уровень экспрессии МСАМ на них наблюдался на всех сроках мониторинга у пациентов с оРТПХ по сравнению с таковым у пациентов без оРТПХ, при этом значимыми отличия стали к +90 дню ($p=0,0062$);

3. У пациентов с оРТПХ количество CD34-позитивных предшественников на +10 день было значимо выше (2,03%) по сравнению с пациентами без оРТПХ (0,08%) ($p=0,037$).

Апробация и реализация работы

Основные положения диссертации представлены в материалах и постерных докладах на 57-м конгрессе Американского общества гематологов (Орландо, Флорида 2015 г.), III конгрессе гематологов России (Москва 2016 г.), 42-м конгрессе Европейского общества трансплантации костного мозга и крови (Валенсия, Испания 2016 г.), 43-м конгрессе Европейского общества трансплантации костного мозга и крови (Марсель, Франция 2017 г.).

Апробация диссертации состоялась на заседании проблемной комиссии: «Клинические исследования в гематологии (гемобластозы, депрессии кроветворения; ТКМ; миело- и лимфопролиферативные заболевания; опухоли лимфатической системы; патология красной крови; ИТП; порфирии), трансфузиологии, патологии гемостаза, хирургической гематологии, анестезиологии и интенсивной терапии» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации РФ 14 мая 2018 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и

науки Российской Федерации, 1 статья на английском языке в зарубежном журнале и 13 тезисных докладов в сборниках конференций.

Объем и структура диссертации

Работа изложена на 118 листах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературных данных, клинической характеристики больных и методов исследования, результатов проделанной работы и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Текст работы содержит 10 таблиц и 37 рисунков. Указатель литературы включает 10 отечественных и 163 зарубежных источника литературы.

Содержание работы

Общая характеристика больных

В исследование включено 30 больных, которым была выполнена алло-ТГСК в отделе химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Генеральный директор – академик РАН, профессор, д.м.н. Савченко В.Г., заведующая отделом – д.м.н. Паровичникова Е.Н., заведующая отделением высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга – к.м.н. Кузьмина Л.А.) в 2013-2014 годах.

Кроме основной группы, в исследование была включена группа контроля (10 здоровых доноров) с целью определения референсных значений популяций клеток Th17, ЦЭК, предшественников эндотелиальных клеток (ПЭК).

Всем включенным в исследование больным осуществляли комплексное предтрансплантационное обследование. Статистическая обработка полученных результатов проводилась в информационно-аналитическом отделе под руководством к.т.н. Куликова С.М.

В исследование было включено 16 мужчин и 14 женщин с медианой возраста 36 лет (24 - 60). Наиболее частым диагнозом был острый лейкоз (ОЛ) – 24 (80%) больных (миелоидный (ОМЛ) – 17; лимфоидный (ОЛЛ) – 7, из них 5 пациентов с Rh-позитивным ОЛЛ), так же в исследование было включено 5 (17%) пациентов с хроническими миелопролиферативными заболеваниями (Rh-негативные – 2 больных, хронический миелолейкоз – 3 пациента, 1 (3%) пациент с миелодиспластическим синдромом и 1 (3%) больному с множественной миеломой была проведена алло-ТГСК.

В качестве миелоаблативных режимов кондиционирования использовались: циклофосфамид 120 мг/кг в сочетании с бусульфаном 16 мг/кг или треосульфаном 36 г/м²).

В режимах кондиционирования сниженной интенсивности использовали следующие схемы: «флударабин 180 мг/м^2 + бусульфан 8 мг/кг + Антитимоцитарный глобулин (АТГ) 40 мг/кг », «FLAMSA-RIC модифицированный протокол: флударабин 180 мг/м^2 + бусульфан 8 мг/кг + цитарабин 8 г/м^2 + идарубицин 30 мг/м^2 +/- АТГ 40 мг/кг » и «флударабин 150 мг/м^2 + мелфалан 140 мг/м^2 + кармустин 400 мг/м^2 ».

После завершения кондиционирования всем пациентам была выполнена трансфузия гемопоэтических стволовых клеток. Среднее количество миелокариоцитов трансплантата составило $2,88 \cdot 10^8/\text{кг}$ ($1,2$ - $3,85 \cdot 10^8/\text{кг}$). Среднее количество CD34-позитивных клеток в трансплантате составило $5,53 \cdot 10^6/\text{кг}$ ($3,5$ - $12,6 \cdot 10^6/\text{кг}$). Одному больному была выполнена трансплантация как костномозговой взвеси, так и стволовых клеток крови (СКК) от неродственного HLA-идентичного донора ($1,05 \cdot 10^8/\text{кг}$ и $1,6 \cdot 10^6/\text{кг}$, соответственно).

Профилактику острой реакции трансплантат против хозяина проводили по стандартным схемам 24 больным (АТГ + Циклоспорин А (ЦСА)+ Микофенолата мофетил (ММФ) + Метотрексат (МТХ) ($n=10$); АТГ + ЦСА + МТХ ($n=11$); ЦСА + МТХ №1, АТГ + ЦСА + ММФ + преднизолон ($n=2$)). Шести пациентам проводили иммуносупрессивную терапию с использованием ЦФ на +3, +4 дни и введением мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) на момент восстановления. Восемью больным со стандартными схемами ИСТ также вводили ММСК с целью профилактики острой РТПХ.

Факт развития острой РТПХ устанавливали на основании клинической картины, результатов лабораторных исследований, морфологического исследования биоптатов пораженных органов в течение первых 100 дней после алло-ТГСК. Тяжесть течения оРТПХ определяли в соответствии с критериями Н. Glucksberg [Glucksberg H. et al. 1974].

Методы исследования

Для выявления ЦЭК, ПЭК, Th17 клеток и CD34-позитивных предшественников применяли метод проточной цитометрии. Исследование выполняли в лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. к.м.н. Гальцева И.В.) на проточном цитометре FACS Canto II, Becton Dickinson. Материалом для иммунофенотипического исследования служили образцы периферической крови (ПК) больных. Суммарно выполнено 300 исследований в восьми контрольных точках. Число пациентов, которым выполнено исследование в конкретной точке представлено в таблице 1.

Таблица 1. Контрольные точки исследования и число пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стовых клеток, которым выполнены исследования в конкретной точке.

Популяция клеток	Число пациентов, обследованных в конкретной точке							
	«До алло-ТГСК»	«День алло-ТГСК»	День исследования после алло-ТГСК					«День развития ОРТПХ»
			«+10»	«день/в»	«+30»	«+60»	«+90»	
Th17	21	0	0	18	20	22	21	7
ЦЭК	30	28	8	29	29	29	28	10
ПЭК	30	28	8	29	29	29	28	10
CD34+ предшественники	30	28	8	29	29	29	28	10

Здесь и далее «день/в» – день восстановления $Le > 1 \cdot 10^9 / л$ (медиана 21 день).

Иммунофенотип исследуемых популяций клеток представлен в таблице 2.

Таблица 2. Иммунофенотип исследуемых популяций клеток

Клетки	Иммунофенотип
Эндотелиальные клетки циркулирующие предшественники	CD34+/CD45-/CD146+ CD34+/CD45dim/CD146+
CD34-позитивные предшественники	CD34+/CD45low
Th17	CD4+/CD45RO+/CD146+

Для определения перечисленных популяций клеток в ПК применяли панель моноклональных антител (МкАТ), меченных одним из флуорохромов: FITC, PE, APC-Cy7, PerCP-Cy5.5, APC. Характеристика МкАт представлена в таблице 3.

Таблица 3. Характеристика используемых моноклональных антител

Препараты МкАТ	Клон	Класс Ig	Флуорохром	Производитель
Anti-CD4	RPA-T4	G1	APC-Cy7	BD
Anti-CD146	D1H12	G1	PerCP-Cy5.5	BD
Anti-CD45RO	UCHL1	G1	FITC	BD
Anti-CD34	2D1	G1	PE	BD
Anti-CD45	8G12	G1	FITC	BD
Anti-CD54	HA58	G1	APC	BD

Учитывая, что у пациентов в ранние сроки после трансплантации определяется глубокая цитопения, а также тот факт, что эндотелиальные клетки редко встречаются в периферической крови, для качественной оценки субпопуляций выполняли подсчет большого числа событий (1 миллион). Для подсчета эндотелиальных клеток и CD34-позитивных предшественников проводили стандартную процедуру пробоподготовки с

использованием десятикратно разведенного лизирующего раствора (FACS lysing solution) и дважды отмывали от разрушенных клеток с помощью изотонического солевого фосфатного буфера (PBS, Sigma Aldrich). Затем выполняли окраску клеточной суспензии с помощью МкАТ по стандартному протоколу фирмы BD. Далее при $t +4^{\circ}\text{C}$ в течение 20 минут в темноте проводили инкубацию. Спустя 20 минут после инкубации клеточную взвесь дважды отмывали. Из каждого образца просчитывали 1 миллион событий. Для исключения из образца тромбоцитов и клеточных фрагментов использовали стандартное гейтирование по прямому и боковому светорассеянию. Учитывая, что эндотелиальные клетки большого размера, мы исследовали лимфомоноцитарный регион. При гейтировании по CD45 в лимфомоноцитарном регионе выделяли два типа клеток: CD45- и CD45dim. В дальнейшем эти клетки гейтировали по CD34/CD146 в качестве положительных событий [Torres C. et al. 2013]. К ЦЭК относили события CD34+/CD45-/CD146+ [Goon P.K.Y. et al. 2009, Lanuti P. et al. 2012, Del Papa N. et al. 2004, Della Porta M. G. et al. 2008], ПЭК – CD34+/CD45dim/CD146+ [Моисеев И.С. 2013, Duda D.G. et al. 2006, Schmidt-Lucke C. et al. 2010, Torres C. et al. 2013].

Подсчет эндотелиальных клеток проводили по следующей формуле:

$$\frac{\text{Количество полученных эндотелиальных клеток (абсолютное количество)}}{\text{Общее количество CD45+ событий}} = \frac{\text{количество эндот кл/л}}{Le \cdot 10^9/\text{л}}$$

Для определения CD34-позитивных предшественников использовали стратегию гейтирования в соответствии со стандартным протоколом, иммунофенотип клеток – CD34+/CD45low [Barnett D. et al. 1999].

Для детекции Th17 пробоподготовка включала в себя разделение клеток в градиенте плотности, согласно протоколу Miltenyi Biotec, с использованием раствора фикола (плотностью $1,077 \text{ г/см}^3$) и центрифугированием в течение 35 минут при 400g и комнатной температуре. Полученное кольцо, содержащее мононуклеарные клетки, осторожно переносили в другую пробирку объемом 15 мл и доводили ее PBS до 10 мл. После чего клетки ресуспендировали и затем центрифугировали в течение 10 минут при 300g. Надосадочную жидкость удаляли и далее проводили окраску клеточной суспензии с помощью МкАТ по стандартному протоколу фирмы BD. Далее проводили процедуру инкубации в течение 20 минут, затем клеточную взвесь дважды отмывали. В каждом образце ПК просчитывали 1 миллион событий. Для исключения из образца тромбоцитов и клеточных фрагментов использовали стандартное гейтирование по прямому и боковому светорассеянию. При гейтировании по CD4 выделяли фракцию CD4+ лимфоцитов, в дальнейшем по прямому и боковому светорассеянию выделяли чистую фракцию CD4+ лимфоцитов. В дальнейшем эти клетки гейтировали по CD45RO, положительные события

затем гейтировали по CD146. К Th17 относили клетки CD4⁺/CD45RO⁺/CD146⁺ [Brucklacher-Waldert V. et al. 2009, Dagur P.K. et al. 2011, Flanagan K. et al. 2012, Laurence A. et al. 2007]. Динамику популяции в данном случае оценивали в относительных значениях: доля Th17 к CD4⁺ клеткам, в дальнейшем по тексту эта популяция обозначается как «Th17», «Th17 клетки» или «Th17 популяция».

Также на этих клетках нами была оценена средняя интенсивность экспрессии (MFI) молекул MSAM, как показатель функциональной активности Th17 клеток.

После проведенных исследований, для анализа данных, использовали классические методы описательной статистики, частотного, дисперсионного, регрессионного анализа, анализа повторных наблюдений и анализа выживаемости. При анализе динамики показателей в качестве предварительного этапа использовали методы графического анализа, экспертной визуальной оценки с целью генерации агрегированных характеристик динамики и советующих гипотез. В качестве производных показателей в анализе использовали в основном изменения значений исходных показателей между определенными временными точками или изменения средних значений до/после определенных событий, например, до/после развития ОРТПХ.

Для анализа клинического выхода использовались классические методы событийного анализа: оценки Каплана-Майера (К-М оценка), лог-ранг тест, а также лэнд-марк анализ для факторов, зависящих от времени.

Для анализа зависимости между популяциями ЦЭК, ПЭК и Th17 использовали общий линейный ковариационный анализ.

Расчеты и запуск процедур анализа проводили с помощью статистического пакета SAS 9.4.

Результаты исследования

1. Клинические результаты

В исследование было включено 30 пациентов.

За время наблюдения к 100 дню у 10 больных отмечалось развитие ОРТПХ; вероятность развития ОРТПХ составила 33,3% (рисунок 1).

В расчетах вероятности развития ОРТПХ мы не учитывали больного с первичным неприживлением трансплантата и больную, погибшую на +18 день после алло-ТГСК. Следует отметить, что самое раннее развитие ОРТПХ было зафиксировано на +15 день после алло-ТГСК. Самая первая точка по определению клеточных популяций (ЦЭК, Th17, CD34-позитивных предшественников) после алло-ТГСК в нашем исследовании была на +10 день, то есть в этой точке ни у одного больного ОРТПХ не была зарегистрирована.

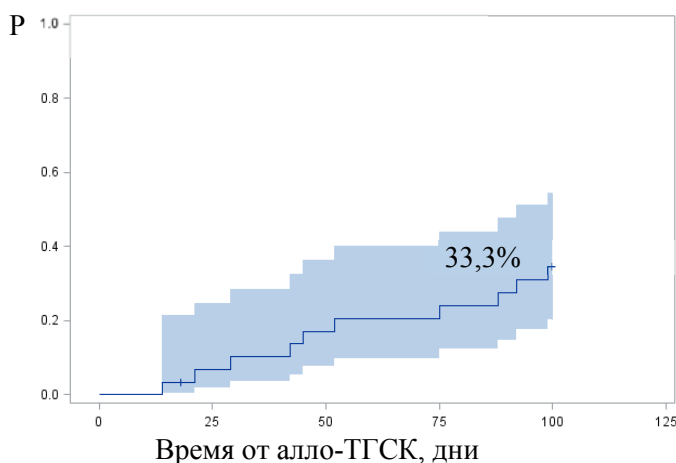


Рисунок 1. Оценка вероятности развития оРТПХ в общей группе больных (n=28) (К-М оценка с 95% доверительным интервалом). Р-вероятность

Для оценки влияния оРТПХ на отдаленные результаты терапии, был проведен ланд-марк анализ выживаемости с контрольной точкой 100 дней после алло-ТГСК. Полученные нами результаты подтвердили известный факт, что наличие оРТПХ является крайне неблагоприятным фактором, влияющим на выживаемость больных ($p=0,0002$). В нашем исследовании у больных без развития оРТПХ 2-х летняя выживаемость составила 84,2%, в то время как с оРТПХ – 20% (рисунок 2). Этот факт неоднократно подтверждался многими исследователями, в том числе рабочей группой EBMT, которая при анализе 1859 пациентов ОМЛ показала, что наличие оРТПХ III-IV степени значимо влияет на общую выживаемость (4-х летняя выживаемость в группе с оРТПХ III-IV составила 43+/-4%, без оРТПХ 60+/-2%, $p<0.001$) [Baron F. et al. 2012].

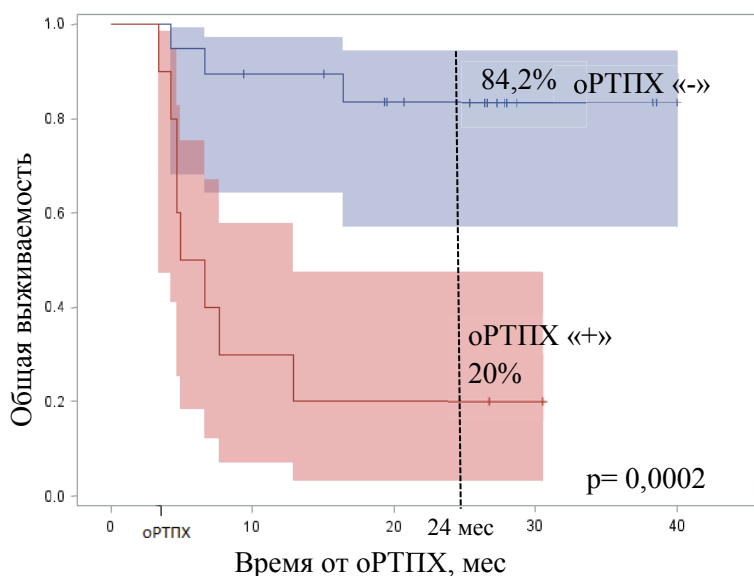


Рисунок 2. Общая выживаемость больных в зависимости от развития оРТПХ (К-М оценка с 95% доверительным интервалом).

У трех больных была констатирована III степень тяжести оРТПХ, у семи пациентов – II степень. Органами мишенями были: желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) – у 2 человек,

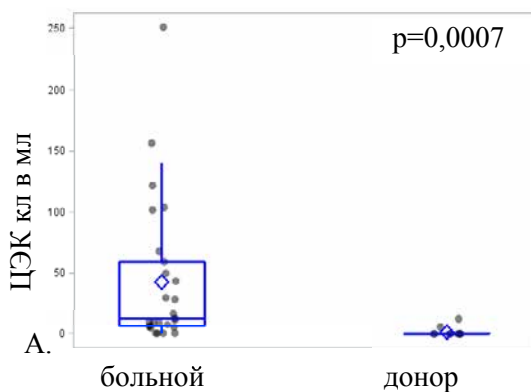
кожа – у 1 пациента, сочетанное поражение кожи и ЖКТ – у 6, сочетанное поражение кожи и печени – у 1 пациента. Четирем больным в соответствии с международными критериями было констатировано рефрактерное течение оРТПХ. Вероятно, сочетание всех этих факторов (степень тяжести и рефрактерное течение РТПХ, поражение ЖКТ) и повлияли на столь низкие показатели общей выживаемости больных с оРТПХ

По нашим данным, вероятность развития оРТПХ зависела от вида алло-ТГСК: у всех пациентов после трансплантации от несовместимого донора отмечалось развитие оРТПХ и у 35,3% с неродственными совместимыми донорами ($p < 0,0001$). Опираясь на эти наблюдения, а также данные крупных исследований, показывающих статистически значимое различие в вероятности развития оРТПХ у пациентов с несовместимыми донорами хотя бы по одному локусу HLA [Lee S.J. et al. 2007], в нашем центре был модифицирован протокол иммуносупрессивной терапии. При алло-ТГСК от несовместимых доноров к стандартной ИСТ добавили введения ЦФ в +3 и +4 дни. При использовании СКК в качестве источника трансплантата, по нашим данным, развитие оРТПХ наблюдалось значимо чаще. 3-х летняя общая выживаемость всех больных, включенных в исследование, составила 62,9%. Статистический анализ не выявил значимого влияния на 3-х летнюю выживаемость разных видов источника трансплантата, варианта диагноза, вида алло-ТГСК.

2. Количество ЦЭК, ПЭК, доля Т-хелперов 17-го типа в популяции CD4+ и интенсивность экспрессии МСАМ на Th17, процентное содержание CD34-позитивных предшественников в ПК у больных до алло-ТГСК и доноров

Нами было выполнено сравнение значений ЦЭК, ПЭК, Th17 и экспрессии МСАМ на Th17 у доноров и у больных в ремиссии заболеваний до проведения алло-ТГСК.

В исследовании выявлены статистически достоверные различия в значениях ЦЭК, ПЭК и средней интенсивности экспрессии МСАМ на поверхности Th17 клеток у больных и доноров (рисунок 3).



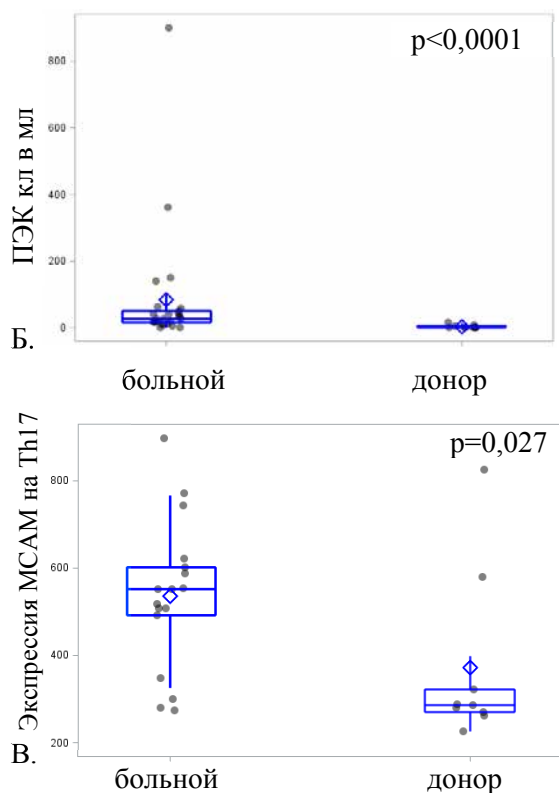


Рисунок 3. Графики значений ЦЭК (А), ПЭК (Б) и экспрессии MSAM на поверхности клеток Th17 (В) у пациентов перед алло-ТГСК и доноров костного мозга.

Ожидаемым результатом явилось обнаружение большего количества эндотелиальных клеток у больных, учитывая проведение курсов химиотерапии, что привело к значительному эндотелиальному повреждению (медиана ЦЭК у больных составила 42,7 кл/мл, у здоровых доноров 1,8 кл/мл, ПЭК у пациентов 81,7 кл/мл, ПЭК у доноров 2,9 кл/мл). Полученные данные подтверждаются различными исследованиями, не только у больных после химиотерапевтического воздействия, но и у больных с заболеваниями, при которых повреждение эндотелия сосудов является основным звеном патогенеза [Goon P.K.Y. et al. 2005, Mancuso P. et al. 2009].

Достоверных различий в относительном количестве Th17 клеток и CD34-позитивных предшественников у пациентов и доноров не выявлено. В ряде публикаций отмечается повышенное количество Th17 клеток у больных, что объясняют ответной реакцией на воспаление, перенесенные ранее вирусные и бактериальные инфекции [Brucklacher-Waldert V. et al. 2009, Prabhala R.H. et al. 2010]. В нашем исследовании образцы крови взяты перед алло-ТГСК при отсутствии инфекционных осложнений, в период «благополучия». Следует отметить, что интенсивность экспрессии MSAM на поверхности Th17 клеток у пациентов была значимо выше, чем у доноров. Мы предполагаем, что именно интенсивность экспрессии MSAM является показателем эффекторной функции этих клеток – способности мигрировать в места воспаления. Вероятно, у пациентов вследствие ранее перенесенных осложнений интенсивность экспрессии MSAM была выше.

3. Динамика популяции ЦЭК.

Анализ динамики ЦЭК в зависимости от вида предтрансплантационного кондиционирования подтвердил факт того, что у пациентов с миелоаблативным вариантом кондиционирования (МАК) на протяжении всего времени наблюдения отмечаются большие значения ЦЭК, чем у больных с режимами кондиционирования сниженной интенсивности (РКСИ) (рисунок 4).

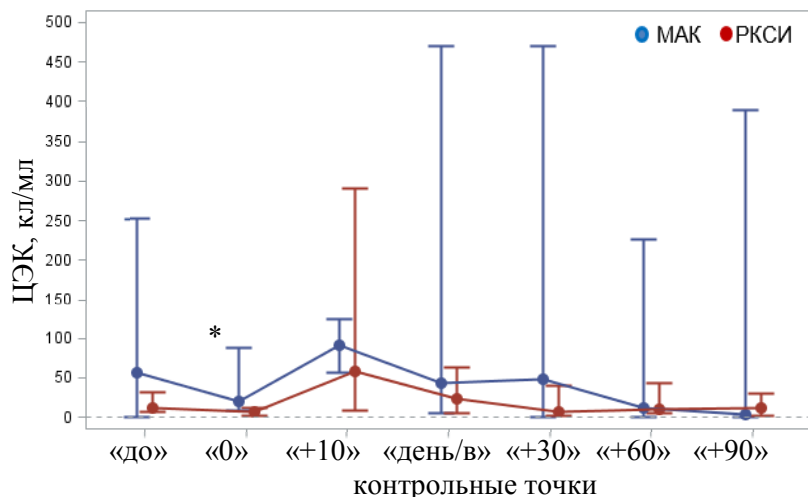


Рисунок 4. Динамика ЦЭК у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от вида предтрансплантационного кондиционирования. По вертикальной оси отложены медианы с 95% доверительными интервалами, по горизонтальной – контрольные временные точки. Знаком «*» обозначены статистически достоверные различия.

Однако достоверные различия определялись только в день алло-ТГСК ($p=0,026$), непосредственно после проведения предтрансплантационного кондиционирования. Полученные нами результаты сопоставимы с известными литературными данными [Weiße N. et al. 2015, Woynowdt A. et al. 2004]. По нашим данным, медиана количества ЦЭК у пациентов в день 0 алло-ТГСК после МАК-режима составила 19 кл/мл, а после РКСИ – 7 кл/мл.

Достоверных изменений в динамике ЦЭК в зависимости от вида иммуносупрессивной терапии не выявлено.

При анализе динамики средних величин (рисунок 5) было выявлено, что количество ЦЭК на + 10 день и на + 30 день у пациентов после алло-ТГСК без развития в дальнейшем оРТПХ значительно больше, чем у больных с развитием оРТПХ ($p=0,037$, $p=0,017$ соответственно).

Эти результаты показали нам интересными, так как, опираясь на данные литературы, указывающие на массивное повреждение эндотелия, как одно из главных звеньев патогенеза оРТПХ, можно было предположить более значимое количество ЦЭК у больных с развитием оРТПХ, как и было показано в ряде исследовательских работ, но в

этих работах все исследования выполнялись на более поздних сроках по сравнению с нашим исследованием [Almici C. et al. 2014, Almici C. et al. 2017, Yan Z. et al. 2011].

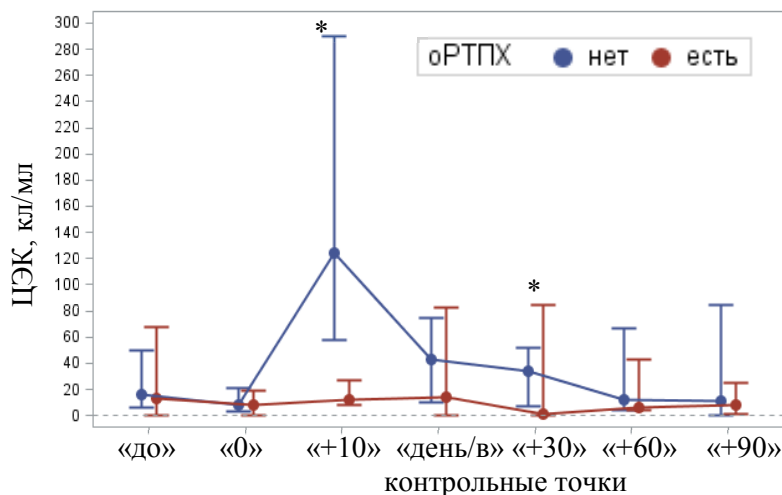


Рисунок 5. Динамика ЦЭК у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от развития оРТПХ. По вертикальной оси отложены медианы с 95% доверительными интервалами, по горизонтальной — контрольные временные точки. Знаком «*» обозначены статистически достоверные различия.

Схожие данные с нашими результатами были описаны Веije N. с соавт.: ими было обнаружено пониженное содержание ЦЭК у пациентов с оРТПХ на сроке +3 мес. после алло-ТГСК (другие точки не исследовались). Авторы объясняют это тем, что прямой иммунный ответ в виде оРТПХ обуславливает уменьшение количества ЦЭК, как клеток эндотелия реципиента. Другое объяснение этого факта, которое предлагают авторы, связано с массивным эндотелиальным повреждением, при котором от ЦЭК остаются только клеточные фрагменты, которые по критериям проточной цитофлуориметрии не учитываются [Веije N. et al. 2015].

Однако наше исследование было выполнено в значительно более ранние сроки после алло-ТГСК, и мы не исключаем иной механизм: возможно, большое количество ЦЭК в периферической крови на ранних сроках после алло-ТГСК ведет к избыточной антигенной стимуляции Т-клеток и индуцирует иммунологическую толерантность, что клинически выражается в отсутствии развития оРТПХ.

4. Динамика популяции Th17 клеток.

При исследовании динамики Th17 популяции в зависимости от применяемой иммуносупрессивной терапии нами не было выявлено статистически значимых различий в контрольных временных точках. Тем не менее, максимальные значения этого показателя наблюдались у пациентов с ЦФ в монорежиме в качестве иммуносупрессивной терапии. Но при анализе индивидуальных графиков и усреднённой динамике регрессионной кривой Th17 популяции у пациентов с ЦФ в качестве ИСТ отмечался большой прирост доли этих

клеток. Достоверные изменения этого прироста были зафиксированы в интервале от дня восстановления до +90 дня ($p=0,017$). Вероятно больший прирост этих клеток связан с отсутствием применения у больных из этой группы ЦСА и ММФ, которые блокируют пролиферацию Т-клеток.

В динамике Th17 популяции в зависимости от предтрансплантационного кондиционирования вероятно в связи с малым объемом выборки достоверных различий получено не было.

Проанализировав динамику Th17 популяции у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от развития оРТПХ, было выявлено, что у пациентов с оРТПХ к +90 дню после алло-ТГСК отмечается значительный прирост Th17 клеток, к +90 дню отличие в группах с и без оРТПХ становится статистически значимой ($p=0,0062$) (рисунок 6).

Таким образом, Th17 являются участниками патогенеза оРТПХ, что неоднократно было показано и в других исследовательских работах [Carlson M.J. et al. 2009, Coghill J.M. et al. 2011, Dander E. et al. 2009, Kappel L.W. et al. 2009, Liu Y. et al. 2013, Yi T. et al. 2008].

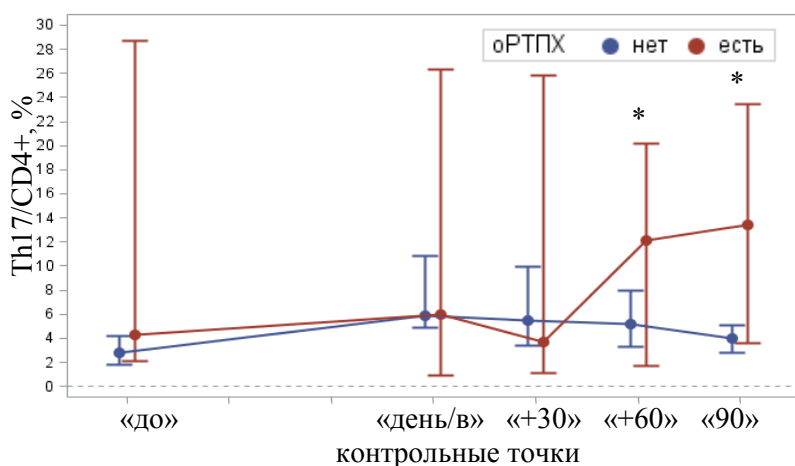


Рисунок 6. Динамика Th17 популяции у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от развития оРТПХ. По вертикальной оси отложены медианы с 95% доверительными интервалами, по горизонтальной контрольные временные точки. Знаком «*» обозначены статистически достоверные различия.

Также была исследована динамика экспрессии молекул МСАМ путем определения MFI CD146 на поверхности клеток Th17 в зависимости от развития оРТПХ. Средняя интенсивность экспрессии МСАМ у пациентов с диагностированной оРТПХ после +30 дня начинает увеличиваться и на +60, +90 дни существенно превосходит значения у больных в группе без оРТПХ (различия значимы, $p=0,0003$ и $p=0,0028$, соответственно (рисунок 7)).

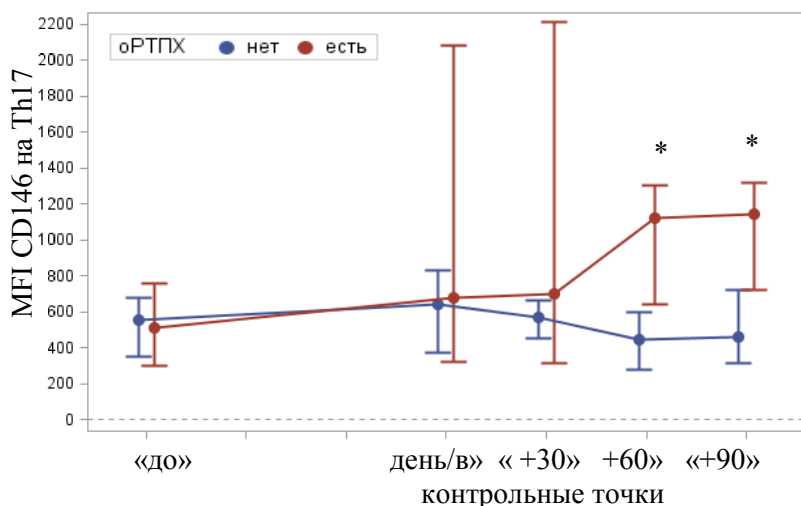


Рисунок 7. Динамика экспрессии МСАМ на поверхности Th17 у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от развития оРТПХ. По вертикальной оси отложены медианы с 95% доверительными интервалами, по горизонтальной контрольные временные точки. Знаком «*» обозначены статистически достоверные различия.

Эти изменения указывают на то, что количество исследуемых Th17, не будучи предиктором оРТПХ, являются своеобразным индикатором ее интенсивности и динамики, так как эти клетки являются активными участниками аллоиммунного процесса.

5. Динамика популяции CD34-позитивных предшественников

При анализе в конкретных временных точках у пациентов со стандартной иммуносупрессивной терапией выброс CD34-позитивных предшественников ко дню восстановления кроветворения достоверно больше, чем у пациентов с ЦФ в монорежиме ($p=0,0038$) (рисунок 8).

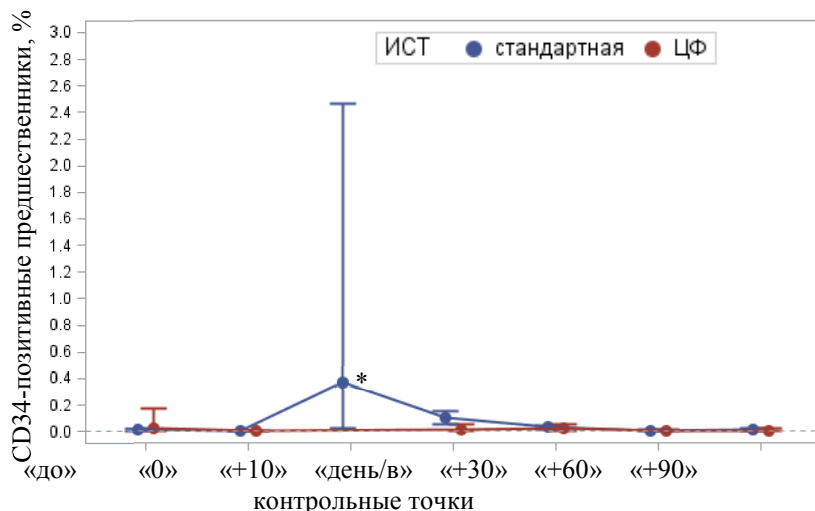


Рисунок 8. Динамики CD34-позитивных предшественников (%), у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от вида иммуносупрессивной терапии. По вертикальной оси отложены медианы с 95% доверительными интервалами, по горизонтальной контрольные временные точки. Знаком «*» обозначены статистически достоверные различия.

В настоящее время в литературе отсутствует информация, описывающая реконституцию CD34-положительных предшественников после введения ЦФ. Вероятно, полученные нами результаты связаны с его прямым цитостатическим воздействием. Известно, что ЦФ не обладает токсическим действием по отношению к стволовым кроветворным клеткам, учитывая повышенное содержание внутриклеточного фермента альдегиддегидрогеназы, однако определяемые нами CD34-положительные предшественники не являются истинными СКК [Gentry T. et al. 2007, Tomita H. et al. 2015].

При анализе динамики CD34-положительных предшественников у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от вида предтрансплантационного кондиционирования достоверных отличий получено не было.

При анализе изменений содержания CD34-положительных предшественников в контрольных временных точках у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от развития оРТПХ было выявлено, что количество этих клеток к + 10 дню достоверно больше у тех больных, у которых в последующем отмечается развитие оРТПХ, рисунок 9. ($p=0,037$).

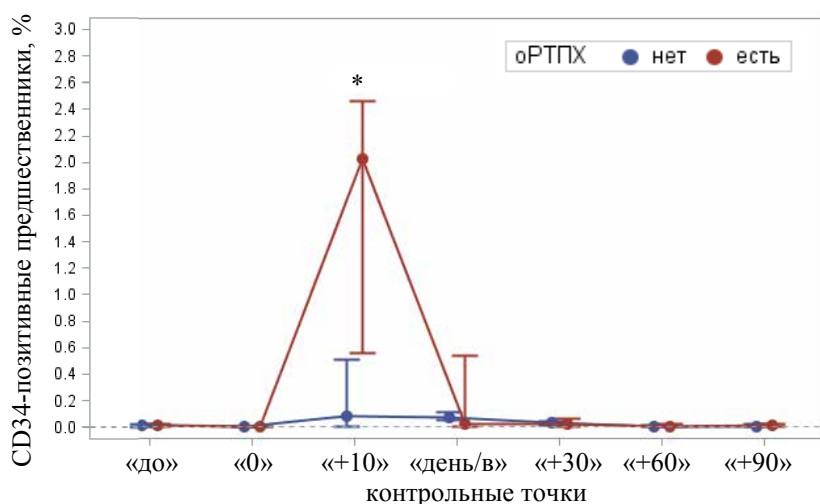


Рисунок 9. Динамика CD34-положительных предшественников (%) у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от развития оРТПХ. По вертикальной оси отложены медианы с 95% доверительными интервалами, по горизонтальной — контрольные временные точки. Знаком «*» обозначены статистически достоверные различия.

Отличия получились значимыми, несмотря на то, что анализируемые группы крайне малы (в этой точке было проанализировано 8 больных: у 3 больных была диагностирована оРТПХ, у 5 - нет).

Медиана относительного содержания CD34-положительных предшественников на + 10 день у пациентов с оРТПХ составила 1,68%, в то время как в группе без оРТПХ – 0,169%. Группы не различались по источнику трансплантата, режиму кондиционирования и иммуносупрессивной терапии. Эти изменения, вероятно, указывают на большую

функциональную активность трансплантата у пациентов, у которых в будущем разовьется ОРТПХ. Похожих наблюдений в литературных источниках нами найдено не было.

6. Взаимосвязь ЦЭК и ПЭК, ЦЭК и Th17, ПЭК и Th17.

Показатели ЦЭК и ПЭК, ЦЭК и Th17 измерялись в нескольких временных контрольных точках, и поэтому для анализа их взаимодействия были использованы методы общего линейного ковариационного анализа последовательных наблюдений. Для расчетов применялась процедура MIXED пакета SAS 9.4. Изучались попарные связи (ЦЭК и ПЭК, ЦЭК и Th17, ПЭК и Th17) с добавлением в регрессионную модель фактора времени, т.е. номера последовательного измерения.

Была выявлена положительная значимая корреляционная зависимость между ЦЭК и ПЭК ($R^2 = 0,25$, $p < 0,001$). Это ожидаемо, учитывая, что ПЭК – является пулом клеток, который в дальнейшем замещает поврежденный эндотелий.

Сравнительная динамика достоверных различий трех популяций клеток в зависимости от развития ОРТПХ представлена в таблице 4.

Таблица 4. Изменение клеточных популяций у пациентов в группах с и без ОРТПХ.

Популяции клеток	Больные	
	с ОРТПХ	без ОРТПХ
Th17	Прирост с +30 дня до достоверного повышения к +90 дню по сравнению с динамикой Th17 у пациентов без ОРТПХ	Не отмечено изменений в этой популяции в динамике
ЦЭК	Значимо меньшее количество ЦЭК по сравнению с больными без ОРТПХ на +10, день восстановления, +30 день	Достоверное повышение на +10 день, день восстановления, +30 день по сравнению с группой с ОРТПХ ($p < 0,05$ на +10, +30 дни)
CD34-позитивные предшественники	Значимое повышение на +10 день по сравнению с показателями у больных без ОРТПХ	Выявлен значимо более низкое процентное содержание CD34-позитивных клеток на +10 день по сравнению с пациентами с ОРТПХ

Таким образом, у больных с оРТПХ:

1. был выявлен постепенный прирост Th17 популяции с +30 дня до +90 дня, сопровождающийся увеличением средней интенсивности экспрессии МСАМ;
2. отмечалось сниженное количество ЦЭК на +10 день, день восстановления кроветворения, на +30 день;
3. было зафиксировано значимое повышение на +10 день содержания CD34-позитивных предшественников.

Выводы

1. Установлено достоверное повышение количества циркулирующих эндотелиальных клеток в день аллогенной трансплантации у больных после миелоаблативного режима кондиционирования (19 кл/мл) в сравнении с режимом пониженной интенсивности (7 кл/мл). Достоверных изменений в динамике циркулирующих эндотелиальных клеток в зависимости от вида иммуносупрессивной терапии не получено.

2. Обнаружен достоверно больший прирост Th17-клеток от дня восстановления кроветворения до +90 дня при использовании посттрансплантационного циклофосфида по сравнению со стандартной иммуносупрессивной терапией. При этом, на момент восстановления кроветворения выявлено значимое увеличение средней интенсивности экспрессии МСАМ на поверхности Th17 клеток у больных после миелоаблативного режима кондиционирования ($p=0,017$).

3. Определено, что количество CD34-позитивных предшественников значимо меньше на +30 день при использовании циклофосфида на +3, +4 дни после алло-ТГСК, при этом достоверных различий в количестве CD34-позитивных предшественников в зависимости от предтрансплантационного кондиционирования не получено.

4. Выявлено, что у больных острой РТПХ определялось достоверно более низкое количество циркулирующих эндотелиальных клеток на +10 день (12,5 кл/мл), +30 день (0,9 кл/мл) после трансплантации по сравнению с больными, у которых не было этого осложнения (124 кл/мл и 33,8 кл/мл, соответственно); значимо большее процентное содержания CD34-позитивных предшественников на +30 день (1,68%), чем у больных без оРТПХ (0,169%), а также достоверно более существенный прирост к +90 дню доли Т-хелперов 17-го типа ($p=0,0062$) и средней интенсивности экспрессии на них молекулы МСАМ.

5. 3-х летняя общая выживаемость больных в исследовании составила 62,9%, вероятность развития острой реакции трансплантат против хозяина к +100 дню достигала –

33,3%. У больных, перенесших острую РТПХ, 2-х летняя общая выживаемость была значимо ниже чем у больных без острой РТПХ – 20% и 84,2% соответственно, ($p = 0,0002$). Вероятность развития острой РТПХ была выше при трансплантациях при частичной совместимости донора и реципиента (при неродственном частично совместимом доноре – 100%, при неродственном совместимом – 35,3%, при родственном совместимом – 10%) при использовании в качестве источника трансплантата стволовых клеток крови (53,3% в сравнении с использованием костномозговой взвеси 13,3%).

Список публикаций по теме диссертации

1. Эффективность фототерапии при хронической реакции «трансплантат против хозяина». Волнухин В.А., Кузьмина Л.А., Васильева В.А., Дубняк Д.С., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Гематология и трансфузиология. 2017. Т. 62. № 2. С. 83-89.
2. Роль гранзима В в популяции Т-регуляторных клеток у больных после трансплантации аллогенного костного мозга. Дроков М.Ю., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А., Гальцева И.В., Васильева В.А., Михальцова Е.Д., Королева О.М., Дубняк Д.С., Савченко В.Г. Гематология и трансфузиология. 2016. Т. 61. № 1. С. 32-37.
3. Post-transplant CY for GVHD prophylaxis in patients with advanced leukemia. Drovok M.Yu., Vasileva V.A., Dubnyak D.S., Koroleva O.M., Mikhalcova E.D., Popova N.N., Konova Z.V., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Annals of Hematology. 2017. Т. 96. № S1. С. s83.
4. Level of granzyme B-positive T-regulatory cells is a strong predictor biomarker of acute graft versus host disease after day +30 after allo-HSCT. Drovok M.Y., Davydova J.O., Kuzmina L.A., Galtseva I.V., Kapranov N.M., Vasilyeva V.A., Dubnyak D.S., Koroleva O.M., Mikhalcova E.D., Popova N.N., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Leukemia Research. 2017. Т. 54. С. 25-29.
5. Granzyme B expression in conventional CD4+ T- cells is strongly associated with increased relapse rate during first 6 months after allo-HSCT. Drovok M.Y., Davydova J.O., Kuzmina L.A., Galtseva I.V., Kapranov N.M., Vasilyeva V., Dubnyak D., Koroleva O., Mikhaltsova E., Popova N., Konova Z., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Blood. 2017. Т. 130. № S1. С. 1990.
6. Impact of post-transplant high-dose Cyclophosphamide on reconstitution in bone marrow recipients. Mikhaltsova E., Drovok M.Y., Davydova J.O., Kuzmina L.A., Popova N., Dubnyak D., Vasilyeva V., Koroleva O., Konova Z., Kapranov N.M., Galtseva I.V., Parovichnikova E.N., Savchenko V. Blood. 2017. Т. 130. № S1. С. 5485.
7. Software-based image analysis of CT scans in patients after allogeneic stem cell transplantation for pulmonary chronic «graft versus host» disease diagnosis. Vasilyeva V., Novikov V., Drovok M., Kuzmina L., Kostina I., Dubnyak D., Koroleva O., Mikhalcova E., Popova N., Galstyan G., Parovichnikova E., Savchenko V. Bone Marrow Transplantation. 2017. Т. 52. № S1. С. S311-S312.
8. Post-transplant high-dose Cyclophosphamide affect T-cells reconstitution in bone marrow, but not in peripheral blood stem cells recipients. Mikhaltsova E., Drovok M., Davydova J., Kuzmina L., Popova N., Dubnyak D., Vasilyeva V., Koroleva O., Konova Z., Kapranov N., Galtseva I., Parovichnikova E., Savchenko V. Haematologica. 2017. Т. 102. № S2. С. 635.
9. Dubnyak D.S., Risinskaya N.V., Drovok M.Y., Kostritsa N.S., Davydova J.O., Kuzmina L.A., Vasilyeva V.A., Popova N.N., Mikhaltsova E.D., Koroleva O.M., Kapranov N.M., Konova Z.V., Galtseva I.V., Sudarikov A.B., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Cellular Therapy and Transplantation. 2017. Т. 6. № 3. С. 37-40.
10. Impact of post-transplant high-dose Cyclophosphamide after hematopoietic stem cell transplantation on bone marrow resident CD8+ cells. Popova N.N., Drovok M.Y., Davydova Yu.O., Kuzmina L.A., Kapranov N.M., Kuchmiy A.A., Vdovin A.S., Mikhaltsova E.D., Dubnyak D.S., Vasilyeva V.A., Koroleva O.M., Konova Z.V., Galtseva I.V., Efimov G.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Cellular Therapy and Transplantation. 2017. Т. 6. № 3. С. 72-74.
11. Анализ клеточных субпопуляций у пациентов после алло-ТГСК при применении альтернативной ветви иммуносупрессивной терапии. Васильева В.А., Паровичникова Е.Н.,

Кузьмина Л.А., Дроков М.Ю., Михальцова Е.Д., Королева О.М., Дубняк Д.С., Савченко В.Г. Гематология и трансфузиология. 2016. Т. 61. № S1(1). С. 96.

12. Granzyme B expression in T-regulatory cells is a strong predictor of acute graft versus host disease after day +30 in patients with classic immunosuppression after allo-HSCT. Drokov M.Yu., Parovichnikova E.N., Davydova Ju., Kuzmina L.A., Galtseva I.V., Kapranov N.M., Vasilieva V., Dubnyak D., Koroleva O., Mikhalcova E., Popova N., Savchenko V.G. Blood. 2016. Т. 128. № 22. С. 2238.

13. Reconstitution of CD34+ progenitor cells after allogeneic stem cell transplantation for patients with post-transplantation Cyclophosphamide. Vasilyeva V., Parovichnikova E., Kuzmina L., Drovkov M., Mikhaltsova E., Koroleva O., Dubnyak D., Galtseva I., Savchenko V. Bone Marrow Transplantation. 2016. Т. 51. № S1. С. 450.

14. Reconstitution of memory T-cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with post-transplantation Cyclophosphamide as tolerance induction. Vasilyeva V., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A., Drovkov M.Yu., Mikhaltsova E., Koroleva O., Dubnyak D., Galtseva I.V., Savchenko V.G. Blood. 2015. Т. 126. № 23. С. 5475.

15. Post-transplant Cyclophosphamide spares granzyme B expression in T-regulatory cells, but not in CD8+ T and NK cells after allogeneic HSCT. Drovkov M.Yu., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A., Vasilieva V., Mikhaltsova E., Koroleva O., Dubnyak D., Galtseva I.V., Savchenko V.G. Blood. 2015. Т. 126. № 23. С. 5422.

16. Granzyme B expression in T-regulatory cells on day +14 after allogeneic stem cell transplantation is a strong predictor of acute graft versus host disease. Drovkov M.Yu., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A., Galtseva I.V., Davydova Yu.O., Kapranov N.M., Vasilieva V., Savchenko V.G. Haematologica. 2015. Т. 100. № S1. С. 603.

Список сокращений

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

АТГ – антитимоцитарный глобулин

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИСТ – иммуносупрессивная терапия

К-М оценка – оценка Каплана-Майера

МАК – миелоаблативный режим кондиционирования

МкАТ – моноклональные антитела

ММСК – мультипотентные мезенхимные стромальные клетки

ММФ – микофенолата мофетил

ОЛ – острый лейкоз

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелобластный лейкоз

oРТПХ – острая реакция трансплантата против хозяина

ПК – периферическая кровь

ПЭК – предшественники эндотелиальных клеток

РТПХ – реакция трансплантата против хозяина

РКСИ – режим кондиционирования сниженной интенсивности

СКК – стволовые клетки крови

ЦСА – циклоспорин А

ЦФ – циклофосфамид

ЦЭК – циркулирующие эндотелиальные клетки

CD – кластер дифференцировки

ЕВМТ – европейское общество трансплантации крови и костного мозга European Society of Blood and Marrow Transplantation

HLA – человеческие лейкоцитарные антигены

МСАМ – молекула адгезии клеток меланомы

МFI – средняя интенсивность экспрессии

МТХ – метотрексат

Ph – филадельфийская хромосома

Th17 – Т-хелперы 17-го типа