

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ BIOTEХНОЛОГИЙ»

УДК 616.71-018.46-089.843:57.083.324]-037-053.2

МИНАКОВСКАЯ
НИНА ВЯЧЕСЛАВОВНА

**ОСТРАЯ ФОРМА РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» У
ДЕТЕЙ: ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА И ЛЕЧЕНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ
СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ СТЕРОИДРЕЗИСТЕНТНОЙ ФОРМЫ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Минск, 2015 г.

Работа выполнена в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии

Научный руководитель: Романова Оксана Николаевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой детских инфекционных болезней БГМУ

Официальные оппоненты: Змачинский Владимир Арнольдович, д.м.н., профессор кафедры клинической гематологии и трансфузиологии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»
Искров Игорь Александрович, к.м.н., врач-гематолог (заведующий отделом клеточных трансплантатов) УЗ «9-ая городская клиническая больница» г. Минска

Оппонирующая организация: РНПЦ радиационной медицины и экологии человека

Защита состоится «18» ноября 2015 г. в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д.03.11.01 при ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» по адресу: 220053, г. Минск, Долгиновский тракт, 160. Телефон ученого секретаря (17) 289-86-20, e-mail: 4kosmacheva@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий».

Автореферат разослан «_16_» _октября_____ 2015 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент



Космачева С.М.

ВВЕДЕНИЕ

Значительные успехи в лечении злокачественных новообразований (ЗН) позволяют обеспечить выздоровление у 60-80 % пациентов [Зубаровская Л. С., 2007; Алейникова О. В., 1993]. Особый интерес исследователей связан с использованием иммунологических подходов для терапии различных форм ЗН. Это объясняется установлением важной роли иммунологических механизмов в осуществлении противовирусной и противоопухолевой защиты организма, а также в проявлениях реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и «трансплантат против опухоли» (РТПО).

Наибольшие проблемы алло-ТГСК связаны с тем, что только около 25 % пациентов имеют HLA-совместимого родственного донора, и в ряде случаев единственным методом выбора терапии заболевания остается трансплантация от неродственного донора (совместимого или частично совместимого) или гаплоидентичная трансплантация. Одним из самых угрожающих жизни осложнений, связанным с родственной или неродственной аллогенной и гаплоидентичной трансплантацией является так называемая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [Balland, L. M., 2008; Ferrara, J. L., 2003]. В зависимости от протоколов иммуносупрессивной профилактики РТПХ, частота ее развития колеблется от 30 до 80 %, летальность составляет от 20 до 50 %. Поэтому исследование, посвященное анализу факторов, предрасполагающих к развитию острой РТПХ (ОРТПХ), является актуальным. В свою очередь, изучение иммунологических показателей и выявление факторов, позволяющих прогнозировать развитие стероидрезистентной формы ОРТПХ на более ранних этапах, позволит выбрать адекватную терапию, нацеленную на снижение повреждающего действия РТПХ на ткани реципиента при сохранении эффекта «трансплантат против лейкоза» (ТПЛ). Одним из методов выбора лечения ОРТПХ, привлекающих в настоящее время большое внимание исследователей, является трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (ТМСК).

Исследования показали, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) модулируют иммунный ответ *in vitro* и *in vivo* путем взаимодействия с широким спектром иммунных клеток, включая Т-лимфоциты, В-лимфоциты, натуральные киллерные клетки и дендритные клетки [Pittenger M. F., 1999]. В ряде экспериментов *in vitro* доказано, что МСК супрессируют активность и пролиферацию Т-клеток, что может применяться для профилактики и лечения РТПХ после алло-ТСК у пациентов. Это подтвердили и клинические работы по ТМСК при алло-ТГСК при HLA-несовместимости между донором и реципиентом, а также результаты 1-го и 2-го этапов кооперативного

исследования по ко-трансплантации МСК донора после аллогенной трансплантации костного мозга у гематологических больных, стартовавшего в 2005 году в США, которые свидетельствуют о значительном снижении частоты развития и тяжести клинических проявлений оРТПХ. [Ringden O., 2006].

Учитывая вышеизложенное, представляется важным выявить клинически значимые факторы риска развития оРТПХ и вероятность развития ее стероидрезистентной формы, основываясь на оценке субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови пациентов в ранние сроки после алло-ТГСК. Изучение прогностического значения Т-регуляторных клеток и их влияния на развитие оРТПХ, позволит разработать рекомендации для применения ТМСК для лечения стероидрезистентной формы оРТПХ у детей. Проведение ТМСК для лечения на более ранних этапах развития оРТПХ приведет к снижению уровня летальности у детей и, в свою очередь, позволит сэкономить значительные средства на иммуносупрессивные лекарственные препараты, применяемые во 2-й и 3-й линиях терапии, как у детей, так и у взрослых.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами), темами

Научное исследование выполнено на базе Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (директор – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАН РБ О. В. Алейникова) в рамках заданий ГНТП 01.04 по трем темам НИР: «Разработка технологии применения мезенхимальных стволовых клеток для профилактики и лечения осложнений после родственных и неродственных аллогенных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток» (2010-2012 гг.; номер государственной регистрации 20101860); «Разработать и внедрить методологию иммунологического мониторинга реакции «трансплантат против хозяина» при проведении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток», подпрограмма «Медицинская биотехнология»; «Лечебные и диагностические технологии», подпрограмма «Терапия» (2009-2010 гг.; номер государственной регистрации 20091664); «Разработать и внедрить метод оценки иммунологической реконституции у детей и подростков после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток»; «Новые технологии диагностики, лечения и профилактики», подпрограмма «Трансплантология и регенеративная медицина» (2011-2014 гг.; номер государственной регистрации 20120100).

Цель и задачи исследования

Цель исследования – повысить эффективность лечения стероидрезистентной формы острой РТПХ у детей с онкогематологическими заболеваниями крови и первичными иммунодефицитами после аллогенной ТГСК путем выявления факторов риска и проведения трансплантации МСК.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить частоту возникновения острой РТПХ у детей после аллогенной ТГСК и выявить факторы риска, позволяющие прогнозировать развитие жизнеугрожаемых стадий данной реакции и стероидрезистентности.
2. Оценить сроки иммунологического восстановления у пациентов детского возраста после аллогенной ТГСК и выявить иммунологические особенности, характерные для острой РТПХ.
3. Оценить эффект применения аллогенной трансплантации МСК от доноров ГСК и от «третьих» доноров для лечения стероидрезистентной формы острой РТПХ после аллогенной ТГСК у пациентов.
4. Разработать протокол применения трансплантации МСК для лечения тяжелой стероидрезистентной формы острой РТПХ после аллогенной ТГСК у пациентов.

Научная новизна:

1. Доказана вероятность развития стероидрезистентной формы РТПХ на основании выявления факторов риска развития острой РТПХ после аллогенной ТГСК у пациентов.
2. Установлено, что соотношение Т-лимфоцитов к ЕК-клеткам является диагностическим критерием острой РТПХ после аллогенной ТГСК у пациентов и позволяет проводить ее мониторинг на фоне иммуносупрессивной терапии.
3. Разработан протокол применения трансплантации МСК для лечения острой реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов. Это позволит повысить выживаемость у детей после алло-ТГСК, улучшить качество их жизни и является вкладом в улучшение демографической безопасности страны.
4. Доказано, что трансплантация МСК является эффективным методом лечения стероидрезистентной формы острой РТПХ желудочно-кишечного тракта после аллогенной ТГСК у детей.

Положения, выносимые на защиту:

1. Острая реакция «трансплантат против хозяина» после алло-ТГСК наблюдается у 55,0 % (при использовании неманипулированных трансплантатов у 62,1 %) пациентов с гематологическими, онкогематологическими заболеваниями крови и первичными иммунодефицитами, при этом чаще диагностируется I и II стадии. В

большинстве случаев отмечается поражение кожи, у половины пациентов – желудочно-кишечного тракта, у трети пациентов – печени. Клинически значимыми факторами риска острой реакции «трансплантат против хозяина» III-IV стадии, с преимущественным поражением ЖКТ, являются: неродственная HLA-несовместимая трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, несовместимость по антигенам HLA-системы (без учета алло-ТГСК с проведенными манипуляциями с трансплантатом), возраст донора старше 30 лет, количество ядросодержащих и CD34+клеток более $5,0 \times 10^8$ /кг и $5,0 \times 10^6$ /кг в трансплантате соответственно.

2. Клинически значимыми факторами риска острой стероидрезистентной формы реакции «трансплантат против хозяина» III-IV стадии после алло-ТГСК, позволяющими ее прогнозировать, являются: неродственная HLA-несовместимая ТГСК, несовместимость по антигенам HLA-системы, возраст донора старше 30 лет, количество ядросодержащих клеток более $5,0 \times 10^8$ /кг массы тела реципиента. Наиболее мощные факторы прогноза – количество ЯСК и несовместимость по антигенам HLA-системы.

3. Первые 100 дней после алло-ТГСК характеризуются иммунодефицитом со сниженным абсолютным количеством всех субпопуляций лимфоцитов, наибольший процент составляют ЕК-клетки и цитотоксические Т-лимфоциты. В случае развития острой реакции «трансплантат против хозяина» в иммунограмме пациентов на +30 день по сравнению с пациентами без нее наблюдается более низкое относительное количество ЕК-клеток, более высокое относительное количество активированных и цитотоксических Т-лимфоцитов. Острая реакция «трансплантат против хозяина» замедляет восстановление В-клеток на день +60 после алло-ТГСК. Такие параметры иммунограммы, как количество ЕК-клеток, Т-лимфоцитов и их субпопуляционный состав, показатели активации Т-клеток, соотношение Т/ЕК, могут использоваться для дифференциальной диагностики острой реакции «трансплантат против хозяина» и ее мониторинга на фоне иммуносупрессивной терапии.

4. Применение трансплантации мезенхимальных стволовых клеток для лечения острой стероидрезистентной формы РТПХ достигает цели своего предназначения, так как 80 % пациентов ответили на клеточную терапию МСК по сравнению с пациентами, лечившимися по стандартному протоколу, из них 30 % вышли в полную ремиссию, 50 % – в частичную. Кумулятивная частота смерти от РТПХ у пациентов после ТМСК также была достоверно ниже.

5. Общая и бессобытийная выживаемость были значительно выше в группе пациентов, получивших ТМСК. Наиболее эффективно применение ТМСК у пациентов при поражении ЖКТ и печени. Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток приводит к снижению содержания субпопуляции CD3+ лимфоцитов, к ограничению распространенности

патологического процесса, что позволяет снизить дозы либо отменить иммуносупрессивную терапию.

Личный вклад соискателя

Тема диссертационного исследования, цель, задачи и методологические подходы к их решению определены соискателем совместно с научным руководителем работы. Планирование и реализация основных этапов клинического исследования, формирование компьютерной базы данных, анализ научных данных, оформление и обобщение полученных результатов, написание всех разделов диссертационной работы выполнены соискателем лично. Формулирование выводов, положений выносимых на защиту и практических рекомендаций выполнено совместно с руководителем. Соискатель самостоятельно изучала наличие факторов риска развития острой и стероидрезистентной формы острой РТПХ у детей после аллогенной ТГСК, лично курировала пациентов с РТПХ, проводила оценку адекватности и эффективности назначенной иммуносупрессивной терапии, что отражено в публикациях (в соавторстве) с суммарным долевым участием диссертанта 75 % [3-20]. Диссертант лично разработала протокол проведения трансплантации аллогенных МСК при стероидрезистентной РТПХ у детей с установлением дозы трансплантата и линии терапии. Соискателем была разработана и внедрена схема мониторинга за пациентами на всех этапах проведения ТМСК. Разработаны (в соавторстве) инструкции по применению, осуществлено внедрение нового метода лечения стероидорезистентной острой РТПХ в клиническую практику в Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Апробация результатов диссертации

Материалы диссертации излагались на 1-м Евразийском конгрессе «Трансплантация стволовых клеток» (г. Минск, 25-27 сентября 2013 г.), VIII форуме творческой и научной интеллигенции государств-участников СНГ (г. Минск, 23-26 сентября 2013 г.), XII Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии» (г. Минск, 3-4 декабря 2012 г.), VII съезде гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (г. Минск, 24-25 мая 2012 г.), международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы детской трансплантологии» (г. Минск, 3-4 декабря 2010 г.), VI Международном симпозиуме «Биологические основы терапии онкологических и гематологических заболеваний» (г. Москва, 29-31 января 2009 г.), VI заседании педиатрической группы Европейского общества трансплантологов (ЕВМТ) (г. Познань, 2-4 июня 2008 г.), международной научно-практической конференции «Стволовые клетки и современные технологии в трансплантологии» (г. Минск, 5 апреля, 2007 г.), X

Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы детской онкологии и гематологии» (г. Минск, 11-13 октября 2007 г.).

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 20 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах, 8 статей в сборниках материалов конференций и тезисов докладов (1,6 авторских листа). Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждены 3 инструкции по применению, 1 рационализаторское предложение. В том числе опубликовано 17 статей и тезисов в международных и зарубежных рецензируемых журналах. Публикаций без соавторов – 1.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, 5 глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Текст диссертации изложен на 132 страницах машинописи, содержит 54 таблицы, 54 рисунка. Библиография включает 12 отечественных и 109 зарубежных источника.

Автор выражает благодарность коллегам: всем врачам-гематологам отделения трансплантации; коллективу лабораторий клеточных биотехнологий и цитотерапии, иммунологии, вирусологии и микробиологии с патологоанатомической группой, клинико-диагностической лаборатории Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии, а также сотрудникам: канд. биол. наук Я. И. Исайкиной, канд. биол. наук Т. В. Шман, канд. биол. наук М. В. Белевцеву, канд. мед. наук М. А. Черновецкому и сотруднику УЗ ГКПБ канд. мед. наук С. К. Клецкому за содействие в выполнении работ.

Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю д.м.н., доценту О. Н. Романовой

Автор выражает глубокую признательность директору ГУ «РНПЦДОГиИ», член-корр., д.м.н., профессору О. В. Алейниковой за оказанную помощь в организации исследования

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика пациентов и методы исследования

В исследование включено 218 алло-ТГСК (4 – повторные), проведенных 214 детям в возрасте от полугода до 18 лет в период с июня 1998 по апрель 2014 года в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии. Наибольшее количество алло-ТГСК проведено детям с острыми лейкозами (ОЛЛ – 72 (33 %), ОМЛ – 41 (18,8 %)) и ПАА – 45 (20,6 %). Для сравнения иммунологических показателей были использованы данные контрольной группы 71 здорового ребенка. 20 пациентам со стероидрезистентной оРТПХ с целью лечения была проведена ТМСК и 11 пациентов без ТМСК составили группу контроля. Все пациенты исследуемых и контрольных групп были сопоставимы по возрасту и полу.

Биохимическое исследование проведено по унифицированной методике на автоматическом многоканальном биохимическом анализаторе с электролитным блоком. Определение серологических маркеров вирусных инфекций проводили методом ИФА. HBV DNA, HCV RNA, CMV DNA в плазме периферической крови исследовали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) количественно и качественно. HLA-типирование донора и реципиента на первом этапе проводили серологическим методом и в случае серологической совместимости выполняли HLA-типирование высокого разрешения. HLA-типирование выполняли в лаборатории иммунологического типирования органов и тканей ГУ «Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии» или в лаборатории Европейского банка доноров (DKMS, Германия). Учет и анализ результатов иммунологических показателей и установление иммунофенотипа МСК проводили методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACSCan (BD) в программе CellQuestPro и на проточном цитофлуориметре FC500 (BeckmanCoulter) в программе СХР.

Получение аллогенного трансплантата мезенхимальных стволовых клеток. Трансплантат МСК получали из 20-30 мл костного мозга доноров, первоначально получая из него фракцию моноклеарных клеток, из которых затем выделяли МСК методом адгезии на пластике флакона. МСК экспандировали *in vitro* в среде IMDM с 10% ЭТС, L-глутамином и 10^{-4} М/л 2-меркаптоэтанола. Проводили не более 3 пассажей МСК, наращивая до нужного объема в зависимости от веса пациента. Отмытые клетки переводили в 20 мл физиологического раствора и вводили пациенту.

Статистические методы обработки данных

Для математической обработки и статистического анализа данных мы

использовали программы Microsoft Excel и Statistica 6.0. Результаты представлены в виде значений медианы и диапазона (25-75 перцентили), а также в виде средних значений и 95 % доверительного интервала. Для сравнения двух независимых выборок использовали U-критерий Манна-Уитни, для сравнения зависимых выборок – W-критерий Вилкоксона с непараметрическим распределением и статистически значимым считалось различие при $p < 0,05$. Для сравнения двух величин, выраженных в процентах, использовали χ^2 тест. Результаты считали достоверными, если $p \leq 0,05$. Выживаемость пациентов после алло-ТСК рассчитывали по методу Каплан-Майера, достоверность различий с помощью Long-rank test.

Результаты собственных исследований

Частота и факторы развития острой реакции «трансплантат против хозяина» после проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

ОРТПХ диагностирована в 120 (55 %) случаях из 218 трансплантаций, после использования неманипулированных трансплантатов (193 алло-ТГСК) количество ОРТПХ увеличилось до 62 %. Достоверно чаще встречались I и II стадии ОРТПХ – 43 (38,3 %) и 46 (38,3 %), $p < 0,05$ соответственно, реже наблюдалась III и IV – 20 (16,6 %) и 11 (9,2 %) соответственно. Поражение кожи при ОРТПХ отмечалось во всех 120 (100 %) случаях, кишечника – в 58 (48,3 %) случаях и печени – в 37 (30,8 %) случаях.

Для всей группы пациентов установлено, что медианой дня начала клинических проявлений ОРТПХ являлся +20 (14-28) день. Однако у одного пациента ОРТПХ развилась на +5-й день, тогда как у другого – на +98 день.

Мы проанализировали такие факторы, влияющие на развитие ОРТПХ, как HLA-совместимость, различия по полу (Ж→М), группе крови, ЦМВ-серостатусу пары донор и реципиент, возраст донора (> 30 лет), источник гемопоэтических стволовых клеток (костный мозг и периферические стволовые клетки (ПСК)), количественный состав трансплантата: Т-лимфоциты (CD3+), ядродержащие клетки (ЯСК), стволовые клетки (CD34+), тип трансплантации (MSD, MUD, MMUD) и применение тотального облучения тела (TOT) в режиме кондиционирования.

Влияние факторов риска на поражение органов-мишеней при ОРТПХ приведено в таблице 1.

Таблица 1. – Влияние факторов риска на поражение органов-мишеней при оРТПХ

| Органы-мишени | Уровень достоверности влияния факторов риска на поражение органов-мишеней при оРТПХ (p) | | | | | | | |
|---------------|---|--------|---------------------------------------|---|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-------|
| | MMUD | ПСК | ЯСК >5,0 x 10 ⁸ / кг | CD34+ >5,0 x 10 ⁶ / кг | Возраст донора > 30 лет | HLA- несовме- стимость | Разли- чия по полу Ж → М | TOT |
| Кожа | | 0,0268 | | | 0,0123 | | 0,0001 | 0,034 |
| ЖКТ | 0,0145 | 0,0002 | 0,0062 | 0,0168 | 0,0038 | 0,0127 | | |
| Печень | | 0,0363 | | | 0,0031 | | | |

Клинически значимыми факторами, угрожающими риском оРТПХ III-IV стадии являются: несовместимость по антигенам HLA-системы (без учета алло-ТГСК с проведенными манипуляциями с трансплантатом), (p=0,0242), возраст донора старше 30 лет (p=0,0230), ПСК как источник ГСК (p=0,0228), количество ЯСК более 5,0 x 10⁸ /кг в трансплантате (p=0,0004) и неродственная аллогенная HLA-несовместимая ТГСК (p=0,0266). Доказан высокий относительный риск развития III-IV стадии оРТПХ при возрасте донора старше 30 лет (RR=2,51 (22-5,20); ДИ 95 %), количестве ЯСК в трансплантате более 5,0 x 10⁸ /кг (RR=2,54 (1,14-5,93); ДИ 95 %), количестве CD34+ клеток более 5,0 x 10⁶ /кг в трансплантате (RR=1,76 (0,8-4,00); ДИ 95 %), проведении неродственной HLA-несовместимой алло-ТГСК (RR (MUD&MMUD)=2,75 (1,15-6,64); ДИ 95 %). Установлено, что клинически значимыми факторами риска острой стероидрезистентной формы реакции «трансплантат против хозяина» III-IV стадии после алло-ТГСК, позволяющими ее прогнозировать, являются: неродственная HLA-несовместимая трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (p=0,0242), несовместимость по антигенам HLA-системы (с и без использования манипуляций с трансплантатом (p=0,035), возраст донора старше 30 лет (p=0,0268), количество ядродержащих клеток более 5,0 x 10⁸ /кг массы тела реципиента (p=0,0023).

Наиболее мощные факторы прогноза – количество ЯСК в трансплантате более 5,0 x 10⁸ /кг (p=0,038), несовместимость пары донор-реципиент по антигенам HLA-системы (p=0,053).

При анализе корреляционных связей и проведении многофакторного анализа (регрессия Кокса) установлено, что наиболее мощными факторами, влияющими на развитие стероидрезистентной формы оРТПХ, являются количество ЯСК более 5,0 x 10⁸ /кг (p=0,038) и несовместимость по антигенам HLA-системы (p=0,053).

Анализ иммунологических показателей периферической крови в ранние сроки после аллогенной ТГСК

Первые 100 дней после алло-ТГСК характеризуются иммунодефицитом со сниженным абсолютным количеством всех субпопуляций лимфоцитов. На +30 сутки после алло-ТГСК у пациентов, развивших острую РТПХ, отмечалось достоверное снижение абсолютного количества ЕК-клеток до 22,0 (11,4-33,8) ($p=0,01$), повышение Т-лимфоцитов до 68,1 (61,3-85,2) ($p=0,005$). Среди субпопуляций Т-клеток наблюдалось достоверное увеличение содержания активированных Т-лимфоцитов до 30,7 (14,6-45,1), $p=0,05$), цитотоксических до 47,0 (36,8-56,5, $p=0,02$) и ЕКТ-клеток до 6,6 (3,2-10,1, $p=0,01$). На +60 и +100 дни после алло-ТГСК у пациентов с острой РТПХ наблюдался достоверно сниженный уровень В-лимфоцитов – 0,6 (0,1-2,1) и 0,7 (0,05-1,9), соответственно ($p<0,05$) и повышенный уровень ЕКТ-клеток – 4,9 (1,9-8,3) и 3,4 (1,8-7,2), соответственно ($p<0,05$). Пациенты, развившие острую РТПХ III-IV стадии, получили в трансплантате достоверно большую дозу ЯСК ($6,0 (4,3-7,1) \times 10^8$ /кг, $p<0,05$), CD34+ клеток ($6,0 (4,3-7,1) \times 10^6$ /кг, $p<0,05$), Т-лимфоцитов ($0,94 (0,51-1,56) \times 10^8$ /кг, $p<0,05$), всех анализируемых субпопуляций Т-клеток: Т-хелперов – $0,54 (0,36-0,83) \times 10^8$ /кг, ($p<0,05$), цитотоксических Т-лимфоцитов – $0,39 (0,18-0,54) \times 10^8$ /кг, ($p<0,05$), ЕКТ-клеток – $0,02 (0,007-0,03) \times 10^8$ /кг, ($p<0,05$), Т-регуляторных клеток – $0,03 (0,02-0,05) \times 10^9$ /кг, ($p<0,05$) по сравнению с группой пациентов с острой РТПХ I-II стадиями.

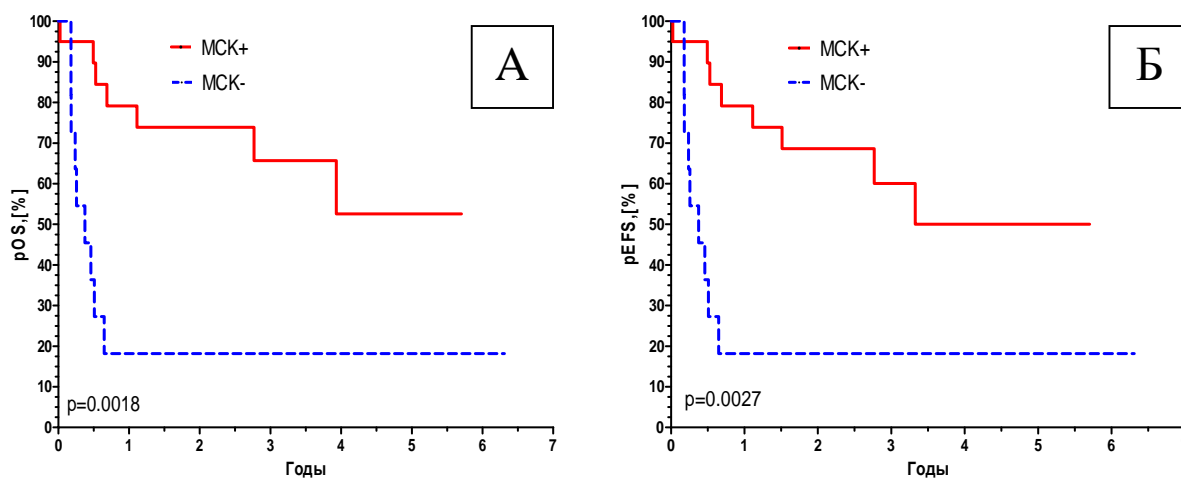
Применение трансплантации МСК для лечения стероидрезистентной формы острой РТПХ

Применение трансплантации аллогенных МСК, в том числе полученных от сторонних доноров, в дозе до $5,4 \times 10^6$ клеток/кг массы тела реципиента не приводили к появлению побочных эффектов ни во время инфузии клеток, ни после нее. Иммуносупрессивные свойства МСК проявились в снижении содержания популяции CD3+ лимфоцитов (с 69,08 до $53,75 \times 10^8$ /кг, $p=0,02$) и активированных CD3+HLA-DR+ лимфоцитов (с 28,02 до $17,98 \times 10^8$ /кг, $p<0,01$) в крови пациентов с острой РТПХ уже на 30 сутки после ТМСК.

Разработана схема и определена линия терапии с применением аллогенных трансплантаций МСК для лечения стероидорезистентной формы РТПХ, при которой клеточная терапия аллогенными МСК в дозе не менее $0,5 \times 10^6$ /кг внутривенно проводится как третья линия терапии.

Проведение аллогенной ТМСК детям со стероидрезистентной формой оРТПХ позволило 80 % из них выйти в ремиссию: у 30 % наблюдалась полная ремиссия и у 50 % – частичная, что значительно выше, чем в контрольной группе без ТМСК, в которой наблюдалась только частичная ремиссия у 27 % детей ($p=0,0039$). Общая выживаемость после применения ТМСК составила 53 %, тогда как в группе без ТМСК только 18 % ($p=0,0018$), разница в

достижении бессобытийной выживаемости в группе пациентов с аллогенной ТМСК составила 50 %, по сравнению с группой пациентов без ТМСК – 18 % ($p=0,0027$) (рисунок 1).



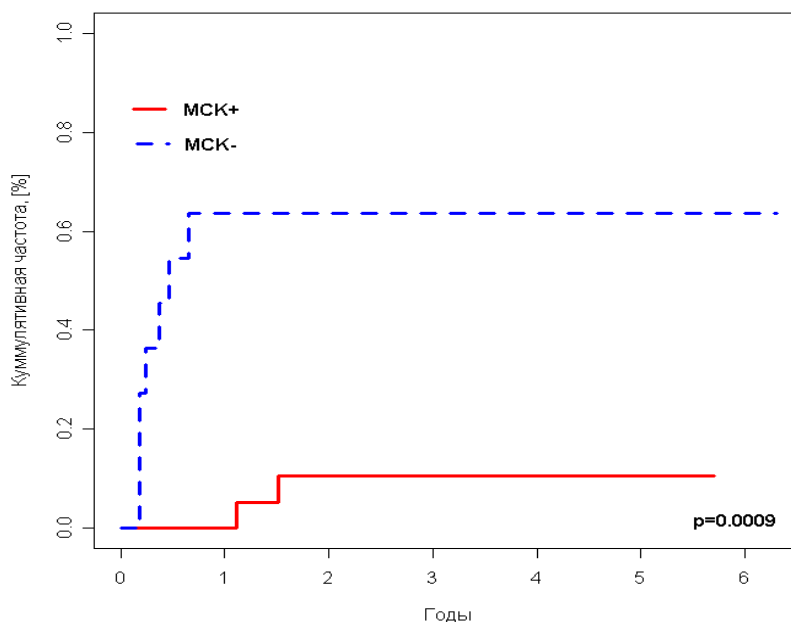
1. А – общая выживаемость (МСК– $n=11$, 2 живы $[18\% \pm 12\%]$; МСК+ $n=20$, 12 живы $[53\% \pm 15\%]$)
2. Б – бессобытийная выживаемость (МСК– $n=11$, 2 живы без событий $[18\% \pm 12\%]$, МСК+ $n=20$, 11 живы без событий $[50\% \pm 14\%]$)

Рисунок 1 – Влияние ТМСК на общую и бессобытийную выживаемость пациентов со стероидрезистентной ОРТПХ.

Кумулятивная частота смерти от ОРТПХ после алло-ТМСК достоверно ниже ($p=0,0009$) и составляла 10,6 %, по сравнению с группой пациентов без аллогенной ТМСК, у которых она составила 7 (63,6 %).

Дана оценка распространенности патологического процесса у всех 20 пациентов, получивших ТМСК, по степени вовлечения в него различных органов и тканей как до аллогенной ТМСК, так и после нее. Как показывают результаты в 11 (55 %) случаях из 20 наблюдалось уменьшение распространенности патологического процесса после аллогенной ТМСК. В 7 случаях (35 %) проведена отмена иммуносупрессивной терапии и в 4 случаях (20 %) – снижение иммуносупрессивной терапии. Уменьшение распространенности патологического процесса доказана морфологически. Выполнено 10 биопсий до введения и 9 биопсий после введения аллогенной ТМСК. После введения МСК отмечалось снижение стадии стероидрезистентной ОРТПХ.

Частота смерти от ОРТПХ при получении пациентами дополнительно к медикаментозному лечению ТМСК составляла 2 (10,6 %), в то время как в группе, где пациенты получали только лекарственные препараты – 7 (63,6 %) ($p=0,0009$) (рисунок 2).



1. Без МСК n=11, 7 смертей от РТПХ [63,6%±3,6%]
2. С МСК+ n=20, 2 смерти от РТПХ [10,6%±2,2%]

Рисунок 2. – Кумулятивная частота смерти от РТПХ в зависимости от трансплантации МСК

Результаты оценки влияния ТМСК на распространенность патологического процесса по степени вовлечения в него различных органов и тканей у 20 пациентов до аллогенной ТМСК и после нее показали в 11 случаях (55 %) уменьшение распространенности процесса, при этом в 7 случаях (35 %) проведена отмена иммуносупрессивной терапии и в 4 (20 %) – ее снижение. Уменьшение распространенности патологического процесса доказано морфологически по оценке материала биопсий до и после аллогенной ТМСК. Введения МСК приводило к снижению стадии стероидрезистентной оРТПХ.

Повторная ТМСК проводилась детям, у которых после первого введения МСК наблюдалась стабилизация процесса, но не происходило клинического улучшения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Острая реакция «трансплантат против хозяина» после алло-ТГСК наблюдается у 55,0 % (при использовании неманипулированных трансплантатов у 62,1 %) пациентов с гематологическими, онкогематологическими заболеваниями крови и первичными иммунодефицитами, при этом чаще диагностируется I и II стадии ($p < 0,05$). По органам-мишеням все 120 детей (100 %) имели поражение кожи, 58 (48,34 %) – поражение кишечника и 37 (30,84 %) – печени. Медианой начала клинических проявлений оРТПХ являлся +20 (14-28) день [3, 4, 7]. Клинически значимыми факторами риска, угрожающими развитием оРТПХ III-IV стадии, являются несовместимость по антигенам HLA-системы с использованием манипуляций с трансплантатом у 13 (21,6 %), $p < 0,05$) и без использования у 10 (37,03 %), $p = 0,0242$) соответственно, возраст донора старше 30 лет (17 (36,97 %), $p = 0,0230$), ПСК, как источник ГСК (18 (33,34 %), $p = 0,0228$), количество ЯСК и CD34 +клеток в трансплантате более $5,0 \times 10^8$ /кг (17 (34,69 %), $p < 0,01$) и более $5,0 \times 10^6$ /кг (16 (57,14 %), $p < 0,01$) соответственно [3, 4, 7, 10, 17].

2. К факторам, прогнозирующим поражение кишечника при оРТПХ относят: несовместимость по HLA-антигенам с использованием манипуляций с трансплантатом (17 (62,96 %), $p = 0,0127$), введение ПСК, как источника ГСК (34 (69,92 %), $p < 0,01$), возраст донора старше 30 лет (28 (57,14 %), $p < 0,01$), количество ЯСК и CD34 +клеток в трансплантате более $5,0 \times 10^8$ /кг (29 (59,18 %), $p < 0,01$) и более $5,0 \times 10^6$ /кг (31 (56,36 %), $p = 0,0168$) соответственно, неродственную HLA-несовместимую ТГСК (16 (69,56 %), $p = 0,0145$) [3, 4, 7, 8, 10].

3. Количество ЯСК в трансплантате более $5,0 \times 10^8$ /кг массы реципиента является фактором риска IV стадии стероидрезистентной оРТПХ (9 (32,14 %), $p < 0,01$). Клинически значимыми факторами, позволяющими прогнозировать развитие III+IV стадии стероидрезистентной оРТПХ являются несовместимость по HLA-антигенам (13 (65 %), $p = 0,03530$), возраст донора старше 30 лет (17 (65,38 %), $p = 0,0268$) и неродственная HLA-несовместимая ТГСК (11 (78,51 %), $p = 0,0266$). Многофакторный анализ установил, что наиболее мощными факторами развития III-IV стадии стероидрезистентной

формы оРТПХ являются количество ЯСК более $5,0 \times 10^8$ /кг ($p=0,038531$) и неродственная HLA-несовместимая ТГСК [3, 4, 10].

4. Пациенты, развившие оРТПХ III-IV стадии, получили в трансплантате достоверно большую дозу ЯСК ($6,0 \times 10^8$ /кг (4,3-7,1), $p<0,05$), CD34+ ($6,0 \times 10^6$ /кг (4,3-7,1), $p<0,05$), Т-лимфоцитов ($0,94 \times 10^8$ /кг (0,51-1,56), $p<0,05$), а также всех анализируемых субпопуляций Т-лимфоцитов (хелперов (0,54 (0,36-0,83), $p<0,05$), цитотоксических (0,39 (0,18-0,54), $p<0,05$), ЕКТ-клеток (0,02 (0,007-0,03), $p<0,05$), Т-регуляторных (0,03 (0,02-0,05), $p<0,05$) по сравнению с группой пациентов с оРТПХ I-II стадиями.

Для мониторингования оРТПХ на фоне иммуносупрессивной терапии большое значение имеет оценка иммунного статуса пациента в первые 100 дней после алло-ТГСК, которая характеризуется иммунодефицитом со сниженным абсолютным количеством всех субпопуляций лимфоцитов.

На +30 сутки после трансплантации у пациентов, развивших оРТПХ, отмечалось достоверное снижение абсолютного количества ЕК-клеток (22,0 (11,4-33,8), $p=0,01$), повышение Т-клеток (68,1 (61,3-85,2), $p=0,005$). Среди субпопуляций Т-клеток наблюдалось достоверное увеличение содержания активированных Т-лимфоцитов (30,7 (14,6-45,1), $p=0,05$), цитотоксических (47,0 (36,8-56,5), $p=0,02$) и ЕКТ-клеток (6,6 (3,2-10,1), $p=0,01$).

На +60 день после алло-ТГСК у пациентов с оРТПХ выявлялся достоверно сниженный уровень В-клеток (0,6 (0,1-2,1), $p=0,04$) и повышенный уровень ЕКТ-клеток (4,9 (1,9-8,3), $p=0,03$).

На +100 день после алло-ТГСК у пациентов с оРТПХ изменения в иммунограмме связаны с достоверным снижением относительного и абсолютного количества В-клеток (0,7 (0,05-1,9, $p<0,001$) и увеличением относительного и абсолютного количества ЕКТ-клеток (3,4 (1,8-7,2), $p=0,03$). Установлено, что оРТПХ приводит к замедлению восстановления В-клеток (0,6 (0,1-2,1) и 1,3 (0,3-7,3) соответственно, $p=0,04$), что становится заметным спустя 2 месяца после алло-ТГСК [2,6,15,21].

5. Трансплантация МСК не вызывает побочных эффектов ни во время инфузии клеток, ни после нее. ТМСК привела к полной и частичной ремиссии острой стероидорезистентной РТПХ у 16 (80 %) пациентов из 20, в контрольной группе без ТМСК частичная ремиссия имела место – у 3 (27 %) пациентов ($p=0,0039$). После получения ТМСК 6 (30 %) пациентов вышли в полную ремиссию, в контрольной группе таких пациентов не было. После ТМСК 11 (55 %) пациентов с оРТПХ III-IV стадии вышли в ПР и ЧР, тогда как в контрольной группе только 2 (18 %) пациента ($p=0,0489$). Иммуносупрессивные свойства МСК при анализе иммунологических показателей периферической крови пациентов с РТПХ до проведения ТМСК и в среднем на 30 сутки после введения МСК проявляются в снижении

содержания популяции CD3+ лимфоцитов (с $69,08 \pm 4,29$ до $53,75 \pm 5,18$, $p=0,02$) и активированных CD3+HLA-DR+ лимфоцитов ($17,98 \pm 2,73$ по сравнению с $28,02 \pm 2,57$ до ТМСК $p<0,01$). Отмечено достоверное снижение ($p<0,01$) летальных исходов от РТПХ после аллотрансплантации МСК, общая и бессобытийная выживаемость были достоверно выше в группе пациентов, получивших ТМСК ($p<0,01$). Применение повторной трансплантации МСК эффективно при поражении кишечника и печени, позволяет добиться положительного ответа в 60 % ($p<0,01$) и 30 % ($p=0,023$) случаях соответственно [5, 9, 11, 13, 14, 16, 18, 20, 22].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Для дифференциальной диагностики и мониторинга оРТПХ на фоне иммуносупрессивной терапии необходимо оценивать такие показатели иммунограммы, как количество ЕК-клеток, Т-клеток и их субпопуляций, показатели активации Т-клеток и соотношение Т/ЕК. Контроль осуществлять на +30, +60 и +100 дни после алло-ТСК [3, 6, 8, 14, 16, 21].

2. При выборе донора ГСК необходимо проведение комплексной оценки всех факторов риска развития III-IV стадии и стероидрезистентной формы оРТПХ. Основными факторами риска являются: HLA-несовместимость пары донор-реципиент, источник стволовых клеток – ПСК, возраст донора >30 лет и неродственная трансплантация [3, 6, 8, 14, 16, 21, 22].

3. Для профилактики развития жизнеугрожаемых III и IV стадии оРТПХ необходимо проводить коррекцию компонентов трансплантата по количеству ЯСК и CD34+клеток: ЯСК не более $5,0 \times 10^8$ /кг, CD34+ не более $5,0 \times 10^6$ /кг массы тела реципиента [3, 6, 8, 14, 16, 21, 22].

4. У пациентов группы риска по развитию III-IV стадии и стероидрезистентной формы оРТПХ за 30 дней до ТГСК осуществить забор костного мозга от родственников или, при их отсутствии, третьих доноров с последующей культивацией МСК для профилактики или лечения данных осложнений [3, 6, 8, 14, 16, 21, 22]

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в научных журналах

1. Восстановление гемопоэза после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей с онкогематологическими заболеваниями / Я. И. Исайкина [и др.] // Весці НАН Беларусі. Серыя. мед. навук. – 2012. – № 3. – С. 29-37.

2. Иммунологическое восстановление в ранние сроки после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей / Т. В. Шман [и др.] // Вопр. гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 12-18.

3. Минаковская, Н. В. Факторы, предрасполагающие к развитию острой реакции трансплантат против хозяина у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтическими клетками / Н. В. Минаковская // Мед. панорама. – 2014. – №.8 [152]. – С.33-36.

4. Факторы прогноза развития стероидрезистентной формы острой РТПХ у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтическими клетками / Н. В. Минаковская [и др.] // Мед. панорама. – 2014. – № 7 [151]. – С.12-17.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

5. Первый опыт применения мезенхимальных стволовых клеток для лечения стероидорезистентной формы реакции трансплантат-против-хозяина / Я. И. Исайкина, Н. В. Минаковская, О. В. Алейникова // Достижения медицинской науки : рец. науч.-практ. ежегод. / ГУ РНМБ; ред.: И. Н. Семененя [и др.]. – Минск, 2010. – Вып. XV. – С. 45-46.

6. Сравнение иммунологических показателей периферической крови пациентов с различной степенью острой РТПХ в ранние сроки после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Т. В. Шман [и др.] // Достижения медицинской науки : рец. науч. -практ. ежегод. / ГУ РНМБ ; ред. : И. Н. Семененя [и др.]. – Минск, 2010. – Вып. XV. – С. 42-43.

7. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и подростков при онкогематологических заболеваниях в Республике Беларусь / Г. Л. Качан, Ю. Е. Марейко, Н. В. Минаковская // Актуальные проблемы педиатрии, детской хирургии и травматологии : материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 50-летию УЗ «ГОКДБ» и 25-летию каф. педиатрии УО «ГрГМУ», Гродно, 10-12 мая 2011 г. – Гродно, 2011. – С. 131-134.

8. Влияние состава трансплантата на развитие реакции трансплантат против хозяина после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей / Т. В. Шман [и др.] // Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии : сб. материалов XII междунар. науч.-практ. конф. / Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии ; ред. О. В. Алейникова. – Минск, 2012. – С. 246-251.

9. Применение трансплантации мезенхимальных стволовых клеток для лечения стероидорезистентной РТПХ / Я. И. Исайкина, Н. В. Минаковская, О. В. Алейникова // Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии : сб. материалов XII междунар. науч.-практ. конф. / Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии ; ред. О. В. Алейникова. – Минск, 2012. – С. 69-75.

10. Острая реакция трансплантат против хозяина у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: факторы риска / Г. Л. Качан [и др.] // Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии : сб. материалов XII междунар. науч.-практ. конф. / Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии ; ред. О. В. Алейникова. – Минск, 2012. – С. 89-93.

11. Минаковская, Н. В. Эффективность применения трансплантации мезенхимальных стволовых клеток для лечения стероидрезистентных форм реакции « трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации у детей с гематологическими заболеваниями и злокачественными новообразованиями / Я. И. Исайкина, О. Н. Романова, О. В. Алейникова // Актуальные вопросы трансплантации стволовых клеток: сб. материалов I Евразийского конгресса «Трансплантация стволовых клеток». / Минск, 25-27 сентября 2013 г. – С. – 100-103.

12. Содержание регуляторных Т-клеток CD34+CD25^{high}CD127^{low/neg} у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Г. Л. Качан [и др.] // Актуальные вопросы трансплантации стволовых клеток: сб. материалов I Евразийского конгресса « Трансплантация стволовых клеток». / Минск, 25-27 сентября 2013 г. – С. – 55-56.

Тезисы

13. The mesenchymal stem cells applying for the prevention and treatment of steroid-resistant GvHD in children in Belarus / Y. Isaikina, N. Minakovskaya, O. Aleinikova // 35th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Göteborg, Sweden, 29.03.2009-01.04.2009 // Bone Marrow Transplant. – 2009. – Vol. 43, suppl. 1. – P. 366-367.

14. Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells for the treatment of steroid-resistant GVHD in children BMT / Y. Isaikina [et al.] // Bone Marrow Transplant. – 2010. – Vol. 45, suppl. 2. – P. 134.

15. Natural killer cell alloreactivity in allogeneic hematopoietic stem cell transplantations for children / T. V. Shman [et al.] // Cell. Ther. and Transplant. – 2010. – Vol. 3, № 9. – P. 111.

16. The effect of mesenchymal stem cell (MSC) transplantation in the treatment of steroid-resistant GVHD in pediatric patients / N. Minakovskaya [et al.] // Cell. Ther. and Transplant. – 2010. – Vol. 3, № 9. – P. 85.

17. CMV infection and early immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children / T. V. Shman [et al.] // Cell. Ther. and Transplant. – 2011. – Vol. 3, № 12. – P. 96.

18. Minakovskaya, N. The result of steroid-resistant GVHD treatment by mesenchymal stem cells infusion in pediatric patients / N. Minakovskaya, Y. Isaikina, O. Aleinikova // Bone Marrow Transplant. – 2012. – Vol. 47, suppl. 1. – P. 375.

Инструкции

19. Метод подбора ЕК-аллореактивного донора для проведения гаплоидентичных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток : инструкция по применению № 174-1110 : утв. МЗ Респ. Беларусь 16.03.2011 г. / Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии ; сост. : Т. В. Шман, Е. П. Вашкевич, А. А. Мигас, Ю. Е. Марейко, Н. В. Минаковская, О. В. Алейникова. – Минск, 2010. – 7 с.

20. Метод трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток для лечения реакции «трансплантат против хозяина»: инструкция по применению № 111-0812: утв. МЗ Респ. Беларусь 28.12.2012 // Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии ; сост. : Я. И. Исайкина, Н. В. Минаковская, О. В. Алейникова. – Минск, 2012. – 6 с.

21. Метод диагностики иммунологических нарушений у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: инструкция по применению № 110-1014: утв. МЗ Респ. Беларусь 18.11.2014 / Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии, ГУО «БелМАПО» ; сост. : Г. Л. Качан, М. В. Белевцев, Л. И. Волкова, Ю. Е. Марейко, Н. В. Минаковская, С. О. Шарапова, О. В. Алейникова. – Минск, 2014. – 6 с.

Рационализаторское предложение

22. Применение аллотрансплантации мезенхимальных стволовых клеток в качестве третьей линии терапии для лечения стероидрезистентной формы реакции « трансплантат против хозяина»: рац. предложение № 76: утв. Сов. Министров Респ. Беларусь 17.02.2010 // Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии от 01.10.2012.

РЕЗЮМЕ

Минаковская Нина Вячеславовна

Острая форма реакции «трансплантат против хозяина» у детей: факторы прогноза и лечение мезенхимальными стволовыми клетками стероидрезистентной формы

Ключевые слова: реакция «трансплантат против хозяина», аллогенная трансплантация гемопоэтическими стволовыми клетками, трансплантация мезенхимальными стволовыми клетками.

Цель работы: повысить эффективность лечения стероидрезистентной формы острой РТПХ у детей с онкогематологическими заболеваниями крови и первичными иммунодефицитами после аллогенной ТГСК путем выявления факторов риска и проведения трансплантации МСК.

Методы исследования: клинический, иммунологический, статистический.

Полученные результаты и их новизна. Частота развития острой РТПХ у детей после алло-ТГСК встречается в 120 (55 %) случаях из 218 трансплантаций. Факторами, влияющими на развитие жизнеугрожающих III-IV стадии стероидрезистентной острой РТПХ, являлись несовместимость по антигенам HLA-системе – 13 (65 %, $p=0,035$), возраст донора старше 30 лет – 17 (65,4 %, $p=0,0268$) и аллогенная неродственная HLA-несовместимая ТГСК – 11 (78,5 %, $p=0,0266$). Количество ЯСК в трансплантате более $5,0 \times 10^8$ /кг массы реципиента являются фактором риска развития IV стадии стероидрезистентной острой РТПХ – 9 (32,1 %, $p<0,01$). Анализ корреляционных связей выявляет, что в результирующей модели в дальнейшем на развитие стероидрезистентной формы острой РТПХ влияние оказывает количество ЯСК более $5,0 \times 10^8$ /кг ($p=0,038$) и совместимость по HLA системе ($p=0,058$), которые являются независимыми факторами. Проведение аллогенной ТМСК привело к полной и частичной ремиссии острой стероидорезистентной РТПХ у 16 (80 %) пациентов из 20, в контрольной группе частичная ремиссия имела место у 3 (27 %) пациентов ($p<0,01$). Разработаны рекомендации по показаниям к проведению трансплантации мезенхимальными стволовыми клетками.

Рекомендации по использованию: полученные результаты могут быть использованы у пациентов с аллогенной ТГСК и острой РТПХ.

Область применения: трансплантатология, гематология.

РЭЗІЮМЭ

Минаковская Ніна Вячаславаўна

Вострая форма рэакцыі «трансплантат супраць гаспадара» ў дзяцей: фактары прагнозу і лячэнне мезенхімальнымі ствалавымі клеткамі стэроідрэзісцентнай формы

Ключавыя словы: рэакцыя «трансплантат супраць гаспадара», аллагеная трансплантацыя гемапаэтычнымі ствалавымі клеткамі, трансплантацыя мезенхімальнымі ствалавымі клеткамі.

Мэта працы: павысіць эфектыўнасць лячэння стэроідрэзісцентнай формы вострай рэакцыі «трансплантат супраць гаспадара» у дзяцей з анкагематалагічнымі захворваннямі крыві і першаснымі імунадэфіцытамі пасля аллагеннай трансплантацыі гемапаэтычнымі ствалавымі клеткамі шляхам выяўлення фактараў рызыкі і правядзення трансплантацыі мезенхімальнымі ствалавым клеткам.

Метады даследавання: клінічны, імуналагічны, статыстычны.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Частата развіцця вострай РТСГ ў дзяцей пасля алло-ТГСК сустракаецца ў 120 (55 %) выпадках з 218 трансплантацый. Фактарамі, якія ўплываюць на развіццё жыццэпагрозлівых III-IV стадыі стэроідрэзісцентнай вострай РТСГ, з'яўляліся несумяшчальнасць па антыгенам HLA-сістэмы – 13 (65 %, $p=0,0353$), узрост донара старэйшы за 30 гадоў – 17 (65,4 %, $p=0,0268$) і аллогенныя няроднасныя HLA-несумяшчальная ТГСК – 11 (78,5 %, $p=0,0266$), а таксама колькасць ЯЗК ў трансплантанце больш за $5,0 \times 10^8$ /кг масы рэцыпіента з'яўляюцца фактарам рызыкі развіцця IV стадыі стэроідрэзісцентнай вострай РТСГ – 9 (32,1 %, $p<0,01$). Аналіз карэляцыйных сувязяў выяўляе, што ў выніковай мадэлі ў далейшым на развіццё стэроідрэзісцентнай формы вострай РТПХ ўплыў аказвае колькасць ЯЗК больш за $5,0 \times 10^8$ / кг ($p=0,038$) і сумяшчальнасць па HLA-сістэме ($p=0,058$), якія з'яўляюцца незалежнымі фактарамі. Правядзенне алла- ТМСК прывяло да поўнай і частковай рэмісіі вострай стэроідрэзісцентнай РТСГ ў 16 (80 %) пацыентаў з 20, у кантрольнай групе частковая рэмісія мела месца ў 3 (27 %) пацыентаў ($p<0,01$). Распрацаваны рэкамендацыі па сведчаннях да правядзення трансплантацыі мезенхімальнымі ствалавымі клеткамі.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя вынікі могуць быць выкарыстаны ў пацыентаў аллагенных ТГСК і вострай РТСГ.

Вобласць ужывання: транспланталогія, гематалогія.

SUMMARY

Minakovskaya Nina Vyacheslavovna

The acute form of “graft versus host diseases” in children: prognostic factors and treatment of mesenchymal stem cells steroidrefractory form

Keywords: graft versus host diseases, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation of mesenchymal stem cells.

The objective of the research is to improve the treatment steroidrefractory forms of acute “graft versus host diseases” in children with hematologic malignancies and primary immunodeficiency after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation by detection of risk factors and transplantation of mesenchymal stem cells.

Methods: clinical, immunological and statistical.

Results of the research and their novelty. The incidence of acute GVHD in children after SCT found in 120 (55 %) cases of 218 transplants. Factors affecting the development of life-threatening III-IV stages steroidrefractory acute GVHD are incompatibility antigens HLA-system – 13 (65 %, $p=0,035$), donor age older than 30 years – 17 (65.4 %, $p=0,0268$) and unrelated allogeneic HLA-incompatible HSCT – 11 (78.5 %, $p=0.0266$). Number of TNC in the graft a $5,0 \times 10^8$ /kg body weight of the recipient is a risk factor for stage IV steroidrefractory acute GVHD – 9 (32.1 %, $p<0,01$). Analysis of correlations reveals that the resulting model in the future for the development of steroidrefractory acute GVHD form influence the number of TNC a $5,0 \times 10^8$ /kg ($p=0,038$) and of HLA-compatible system ($p=0,058$), which are independent factors. Carrying allogeneic MSCT led to a complete and partial remission of steroidrefractory acute GVHD in 16 (80 %) of the 20 patients, in the control group partial remission occurred in 3 (27 %) patients ($p<0,01$). Recommendations were created on the indications for transplantation mesenchymal stem cells.

Recommendations for use: The results can be used in patients with allogeneic HSCT and acute GVHD.

Application area: transplantology, hematology.

Научное издание

**МИНАКОВСКАЯ
НИНА ВЯЧЕСЛАВОВНА**

**ОСТРАЯ ФОРМА РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» У
ДЕТЕЙ: ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА И ЛЕЧЕНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ
СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ СТЕРОИДРЕЗИСТЕНТНОЙ ФОРМЫ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Подписано в печать 14.10.2015 г. Формат 60x84/15.
Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать ризографическая.
Усл. печ.л.1,4. Уч.-изд.л. 1,24. Тираж 50 экз. Заказ 244.

Отпечатано на ризографе с оригинал-макета заказчика.
ОДО «Экспресс Принт», 220002, Минск, ул. Кропоткина, 44.
Лицензия ЛП 02330/0552792 от 13.12.2010 г.