

рован диаллельный MspI рестрикционный полиморфизм (G2319A), который был выбран в качестве генетического маркера, сцепленного с нарушениями поведенческих реакций [4].

Установлено, что в экспериментальной группе наблюдалось статистически значимое превалирование (60,2 %) аллеля А ($\chi^2 = 12.93$, $p = 0,0003$, $df = 1$); распределение частот генотипов в экспериментальной и контрольной группах соответствовало распределению Харди-Вайнберга. Риск возникновения болезней зависимости выше в 8,8 раза у носителей генотипа АА, который установлен в 38,6 % случаев в экспериментальной группе.

Полученные нами результаты в целом согласуются с ранее опубликованными данными о взаимосвязи полиморфизма гена DAT1 и употреблении психоактивных веществ [5–6]. Аллель А гена DAT1 можно рассматривать предиктором болезней зависимости от психоактивных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучма, В. Р. Теоретические основы гигиены и охраны здоровья детей и подростков / В. Р. Кучма, Л. М. Сухарева // Здоровые дети России в XXI веке. – М., 2000. – С. 35–54.

2. Agatsuma S. Genetic basis of drug dependence and comorbid behavioral traits / S. Agatsuma, N. Hiroi // Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi. – 2004. Jun. – V. 24, № 3. – P. 137–145.

3. Анохина, И. П. Центральные механизмы предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ / И. П. Анохина, Л. Н. Векшина, А. Г. Веретинская // Журн. неврологии и психиатрии. – 2007. – № 12. – С. 83–84.

4. Wernicke, C. Evidence for the importance of the human dopamine transporter gene for withdrawal symptomatology of alcoholics in a German population / C. Wernicke, M. Smolka, J. Gallinat. // Neurosci. Lett. – 2002. – V. 333. – № 1. – P. 45–48.

5. Limosin, F. The A9 allele of the dopamine transporter gene increases the risk of visual hallucinations during alcohol withdrawal in alcohol-dependent women. / F. Limosin, J. Y. Loze, C. Boni. // Neurosci. Lett. – 2004. – V. 362. – № 2. – P. 91–94.

6. Kohnke, M. D. Association of the dopamine transporter gene with alcoholism / M. D. Kohnke, A. Batra, W. Kolb // Alcohol Alcohol. – 2005. – V. 40. – № 5. – P. 339–342.

КОЛИЧЕСТВО Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ ДО И ПОСЛЕ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ АУТОЛОГИЧНЫМИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ

NUMBER OF MEMORY T-CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS BEFORE AND AFTER CELL THERAPY WITH AUTOLOGOUS MESENCHYMAL STEM CELLS

А. Н. Левковская, Д. Б. Нижегородова

A. Levkovskaya, D. Nizhegorodova

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,

г. Минск, Республика Беларусь

anastasiya.levkovskaya@inbpx.ru

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Клеточная терапия рассеянного склероза (РС) – это метод лечения РС, который позволяет восстановить поврежденный миелин при помощи трансплантации стволовых клеток. Представлены результаты количественного определения Т-клеток памяти у пациентов с данным заболеванием.

Cellular therapy for multiple sclerosis (MS) is a method of treatment of MS. It allows to repair the damaged myelin by stem cell transplantation. These theses present the results of quantitative determination of memory T-cells in patients with this disease.

Ключевые слова: Т-клетки памяти, пациент, клеточная терапия, рассеянный склероз, стволовые клетки.

Keywords: T-memory cells, patient, cell therapy, multiple sclerosis, stem cells.

Введение. Рассеянный склероз – сложное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы с преимущественным аутоиммунным механизмом развития, ремиттирующим течением и неизбежно приводящее к инвалидности. За последнее десятилетие стало известно, что иммунологическая память может существовать также в контексте аутоиммунитета, что объясняет аутоиммунную атаку против потенциальных аутоантигенов. Ключевая роль в создании стойкой аутоиммунной миелин-специфической реакции принадлежит Т-клеткам памяти за счет их эффекторной функции и относительной долговечности. В связи с этим в последние годы ведется активное изучение данной популяции клеток с целью поиска эффективных способов влияния на их количество

и функциональную активность. Уникальность клеточной терапии РС состоит в том, что она помогает достичь высоких результатов в лечении и существенно улучшить состояние пациента. Стволовые клетки при лечении РС помогают восстановить миелин, а это, в свою очередь, благотворно влияет на восстановление функций ЦНС.

Цель: оценить количество Т-клеток памяти и их субпопуляций до и после инфузии мезенхимальных стволовых клеток (МСК) у пациентов с рецидивно-ремиттирующей формой РС.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужила цельная кровь, полученная от 14 пациентов с рецидивно-ремиттирующей формой течения РС до и в течение года после проведения аутологичной трансплантации МСК. Средняя продолжительность заболевания пациентов составила 46,5 (1,0 ÷ 178,0) месяца. Уровень инвалидизации по шкале EDSS на момент забора образцов периферической крови у пациентов с РС составил 2,5 (1,5÷4,0) балла. МСК получали из мононуклеаров костного мозга пациентов с РС путем избирательной адгезии к культуральному пластику. Количество популяций Т-клеток памяти определяли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител к CD3-PC7, CD4-FITC, CD8-PC5, CD45RO-ECD и проточного цитометра Cytomics FC 500 («Beckman Coulter», США). Статистическая обработка данных проводили с использованием стандартного пакета программы Statistica 6.0 («Stat Soft Inc.», США).

Результаты. У пациентов с РС количество Т-клеток памяти и их субпопуляций до клеточной терапии МСК варьировало в следующих диапазонах: CD3⁺CD45RO⁺Т-клетки - 24,1 (20,7÷27,3) %, CD4+45R0+ Т-клетки - 30,2 (24,45÷39,3) %, CD8+45RO+ Т-клетки – 12,55 (11,0÷14,6) %, CD8lo+45RO+ Т-клетки – 24,9 (14,9÷32,5) %, CD8hi+45RO+ Т-клетки – 11,75 (10,2÷14,4) %. Через 10 дней после инфузии МСК у пациентов с РС установлено увеличение числа CD3+45R0+ Т-клеток – 24,9 (18,6÷31,1) %, CD8+45RO+ Т-клеток – 13,8 (10,2÷16,8) % и CD8hi+45RO+ Т-клеток – 14,5 (10,4÷17,8) %, а также снижение количества CD4+45R0+ Т-клеток – 29,4 (22,1÷42,9) % и CD8lo+45RO+ Т-клеток – 20,15 (13,5÷27,75) %. В период 10 дней – 6 месяцев не установлено статистически значимых различий в удельном содержании Т-клеток памяти. Однако, через 9 месяцев после инфузии МСК наблюдалась тенденция к снижению CD3⁺CD45RO⁺Т-клеток – 23,6 (21,6÷30,1) %, CD4+45R0+ Т-клеток – 29,1 (25,6÷35,7) %, CD8+45RO+ Т-клеток – 12,2 (9,9÷18,0) %, CD8lo+45RO+ Т-клеток – 20,7 (14,4÷26,7) %, практически не изменилось содержание CD8hi+45RO+ Т-клеток – 12,05 (9,66÷19,0) %. И через 12 месяцев регистрировалась статистически значимое уменьшение количества всех исследуемых популяций Т-клеток по сравнению с аналогичными показателями до клеточной терапии. Так процент CD3⁺CD45RO⁺Т-клеток составил 15,7 (13,8÷26,7) %, CD4+45R0+ Т-клеток – 18,35 (15,15÷33,15) %, CD8+45RO+ Т-клеток – 10,08 (8,2÷15,2) %, CD8lo+45RO+ Т-клеток – 20,8 (16,55÷32,95) %, CD8hi+45RO+ Т-клеток – 9,09 (6,95÷14,2) %.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о статистически значимом снижении Т-клеток памяти и их субпопуляций через год после инфузии МСК, что характеризует положительный эффект клеточной терапии и может быть использовано для разработки нового направления патогенетической терапии РС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зафранская, М. М., Федулов, А. С., Демидчик, Ю. Е. Эффект мезенхимальных стволовых клеток при клеточной терапии рассеянного склероза. – 2016. – С. 28–65.
2. Sallusto, F., Geginat, J., Lanzavecchia, A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22:745–63. [PubMed: 15032595].
3. Mueller, S. N., Gebhardt, T., Carbone, F. R., Heath WR. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence. *Annu Rev Immunol.* 2013; 31:137–61. [PubMed: 23215646].
4. Kawakami, N., Odoardi, F., Ziemssen, T., Bradl, M., Ritter, T., Neuhaus, O. et al. Autoimmune CD4⁺ T cell memory: lifelong persistence of encephalitogenic T cell clones in healthy immune repertoires. *J Immunol.* – 2005; 175:69–81. [PubMed: 15972633].
5. Beeton, C., Wulff, H., Standifer, N. E., Azam, P., Mullen, K. M., Pennington, M. W., et al. Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103:17414–9. [PubMed: 17088564].