

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

ПУНЬКО

Анастасия Владимировна

СРАВНЕНИЕ ХИМЕРИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С АПЛАСТИЧЕСКОЙ
АНЕМИЕЙ И ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ПОСЛЕ
АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
научный сотрудник
В. А. Лавриненко

Минск, 2018

РЕФЕРАТ

Отчет: 63 страницы, 46 рисунков, 6 таблиц, 45 источников.

Ключевые слова: химеризм, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, апластическая анемия, первичные иммунодефициты, отторжение.

СРАВНЕНИЕ ХИМЕРИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ И ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Цель работы: сравнение динамики химеризма после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) у пациентов с апластической анемией (АА) и первичными иммунодефицитами (ПИД).

Объект исследования: 16 пациентов с ПИД и 18 с АА, которым с 2011 по 2017 годы на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» была проведена аллоТГСК.

Методы: выделение ядросодержащих клеток у пациентов и их доноров до и после аллоТГСК из периферической крови и костного мозга; выделение ДНК; сортировка с помощью флуоресцентной активированной сортировки клеток (FACS) и магнитная сепарация клеток (MACS); определение химеризма методом STR-ПЦР с фрагментным анализом и InDel-ПЦР.

Полученные результаты: В результате исследования был определен уровень химеризма у 18 пациентов с АА и у 16 с ПИД. У пациентов с АА полный донорский химеризм (ПДХ) был выявлен после 35% аллоТГСК, ПДХ с конверсией в смешанный химеризм (СХ) – после 10%, персистирующий СХ – после 10%, увеличивающийся СХ – после 10%, уменьшающийся – после 25%, неприживление трансплантата – после 10%. У пациентов с ПИД ПДХ был выявлен после 68,75% аллоТГСК, увеличивающийся СХ – после 12,5%, уменьшающийся – после 18,75%. На уровень химеризма сильное влияние оказывает основное заболевание. ПДХ чаще развивается у пациентов с ПИД, чем у пациентов с АА ($p < 0.05$). У пациентов с АА вторичное отторжение трансплантата было ассоциировано с прогрессивно увеличивающимся СХ ($p = 0.007$), а у пациентов с ПИД – не ассоциировано. При исследовании линейно-специфического химеризма выявили, что СХ при АА обусловлен длительным персистированием Т-лимфоцитов реципиента, тогда как в других субпопуляциях чаще устанавливается ПДХ. При СХ у пациентов с ПИД Т-лимфоциты полностью/преимущественно донорские, а гранулоциты представлены клетками реципиента.

РЭФЕРАТ

Справаздача: 63 старонкі, 46 малюнкаў, 6 табліц, 45 крыніц.

Ключавыя словы: хімерызм, аллагенная трансплантацыя гемапаэтычных ствалавых клетак, апластычная анемія, пярвічныя імунадэфіцыты, адрыньванне.

ПАРАЎНАННЕ ХІМЕРЫЗМА Ў ПАЦЫЕНТАЎ З АПЛАСТЫЧНАЙ АНЕМІЯЙ І ПЯРВІЧНЫМІ ІМУНАДЭФІЦЫТАМІ ПАСЛЯ АЛЛАГЕННАЙ ТРАНСПЛАНТАЦЫІ ГЕМАПАЭТЫЧНЫХ СТВАЛАВЫХ КЛЕТАК

Мэта работы: параўнанне дынамікі хімерызма пасля аллагеннай трансплантацыі гемапаэтычных ствалавых клетак у пацыентаў з апластычнай анеміяй і пярвічнымі імунадэфіцытамі.

Аб'ект даследавання: 16 пацыентаў з пярвічнымі імунадэфіцытамі і 18 пацыентаў з апластычнай анеміяй, якія знаходзіліся на лячэнні ў ГУ «Рэспубліканскі навукова-практычны цэнтр дзіцячай анкалогіі, гематалогіі і імуналогіі» з 2011 па 2017 год.

Метады: вылучэнне ядразмешчаных клетак у пацыентаў і іх донараў да і пасля аллаТГСК для перыферычнай крыві і для касцявога мозгу; вылучэнне ДНК; сартаванне з дапамогай флуарэсцэнтнага актываванага сартавання клетак FACS і магнітнай сепарацыі клетак (MACS); вызначэнне хімерызма метадамі STR-ЛЦР і InDel-ЛЦР.

Атрыманыя вынікі: У выніку даследавання быў вызначаны ўзровень хімерызма ў 18 пацыентаў з АА і ў 16 з ПД. У пацыентаў з АА пасля аллаТГСК назіраецца розная дынаміка хімерызма. Поўны донарскі хімерызм ($> 98\%$) быў выяўлен пасля 35% аллаТГСК, ПДХ з канверсіяй у змешаны хімерызм (ЗХ) – пасля 10%, ЗХ, які персісціруе – пасля 10%, ЗХ, які павялічваецца – пасля 10%, ЗХ, які змяншаецца – пасля 25%, 0% хімерызм – непрыжыўленне – пасля 10%. У пацыентаў з ПД ПДХ быў выяўлены пасля 68,75% аллаТГСК, ЗХ, які павялічваецца – пасля 12,5%, ЗХ, які змяншаецца – пасля 18,75%. На ўзроўні хімерызма моцны ўплыў аказвае асноўнае захворванне. ПДХ часцей развіваецца ў пацыентаў з ПД, чым у пацыентаў з АА ($p < 0.05$). У пацыентаў з АА другаснае адрыньванне трансплантанта было асацыявана з ЗХ, які прагрэсіўна павялічваецца ($p = 0,007$), а ў пацыентаў з ПД – неасацыявана. Пры даследаванні лінейна-спецыфічнага хімерызма выявілі, што ЗХ ў пацыентаў з АА абумоўлен доўгім персісціраваннем Т-лімфацытаў рэцыпіента, тады як іншых субпапуляцыях часцей бывае ПДХ. Пры ЗХ ў пацыентаў з ПД Т-лімфацыты пераважна донарскія, а гранулацыты прадстаўлены клеткамі рэцыпіента.

ABSTRACT

Report: 63 pages, 46 figures, 6 tables, 45 sources.

Keywords: chimerism, allogeneic stem cell transplantation, aplastic anemia, primary immunodeficiencies, rejection.

COMPARISON OF CHIMERISM IN PATIENTS WITH APLASTIC ANEMIA AND PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES AFTER ALLOGENIC HEMOPOETIC STEM CELL TRANSPLANTATION.

Aim of the work: to compare the dynamics of chimerism after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells in patients with aplastic anemia and primary immunodeficiencies.

Object of research: 16 patients with primary immunodeficiencies and 18 with aplastic anemia treated at the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology from 2011 to 2017.

Methods: nucleated cells isolation from peripheral blood and bone marrow in patients and their donors before and after alloHSCT; DNA isolation; sorting with fluorescence activated cell sorting FACS and magnetic separation technology (MACS); determination of chimerism by STR-PCR and InDel-PCR.

Results: In the study we determined the chimerism level in 18 patients with AA and in 16 with PID. Patients with AA after alloHSCT had full donor chimerism (> 98%) after 35% alloHSCT, FDC with conversion in MC – after 10%, persistent MC – after 10%, increased MC – after 10%, decreasing – after 25%, 0% chimerism (non-treatment) after 10%. Patients with PID had detected FDC after 68.75% alloHSCT, increased MC after 12.5%, decreasing after 18.75%. The level of chimerism is also strongly influenced by the primary disease. FDC was more often observed in patients with PID than in patients with AA ($p < 0.05$). In patients with AA, secondary graft rejection was associated with progressively increasing MC ($p = 0.007$) and in patients with PID there was no such association. MC in patients with AA was caused by long persistence of recipient T-lymphocytes, whereas FDC was often established in other subpopulations. In patients with PID having MC T-lymphocytes were of donor origin but granulocytes were represented by recipient cells.