

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-3-97-105

АНАЛОГИ НЕЙТРОФИЛЬНО-ЛИМФОЦИТАРНОГО ОТНОШЕНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО ПУЛА СТВОЛОВЫХ И НЕЗРЕЛЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ДЛЯ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ПЕЧЕНИ

А.Н. Шутко¹, О.А. Герасимова^{1, 2}, Н.В. Марченко^{1, 2}, И.И. Тилеуберганов¹

¹ ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель: изучить применимость нейтрофильно-лимфоцитарного отношения (НЛО) для мониторинга состояния реципиентов и возможной минимизации поддерживающей иммуносупрессивной терапии в отдаленном периоде после трансплантации печени (ТП). **Материалы и методы.** Образцы крови 19 реципиентов с удовлетворительной функцией трансплантата исследованы методом проточной цитофлуориметрии в различные сроки после ТП с использованием маркеров стволовых гемопоэтических клеток CD133, их CD31-производных и белка альфа-фетопротейна (АФП) в сравнении с конвенциональным НЛО. **Результаты.** Применение аналогов НЛО с CD133 и CD31 для мониторинга состояния трансплантата печени обусловлено их высоким представительством в ткани печени. Их значения изменяются в отдаленном посттрансплантационном периоде (от 1,5 до 6–7 лет после ТП) ≈ 20 -кратно и разнонаправленно, но при условии измерения только их коммитированных к печени клеточных фракций, несущих маркер АФП. **Заключение.** В отличие от обычного НЛО поддержание достигнутого к 1,5 годам после ТП наименьшего уровня «аналога» НЛО CD31AFP можно считать критерием успешности иммуносупрессивной терапии в позднем периоде после трансплантации печени. Разработанная методика может быть использована для принятия решения о сокращении или прекращении медикаментозной профилактики отторжения.

Ключевые слова: нейтрофильно-лимфоцитарное отношение, стволовые гемопоэтические клетки (СГК), CD133, CD31, альфа-фетопротейн, трансплантация печени.

EQUIVALENTS OF THE NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE RATIO OF CIRCULATING POOL OF STEM AND IMMATURE HEMATOPOIETIC CELLS FOR ASSESSING LIVER TRANSPLANT STATUS

A.N. Shutko¹, O.A. Gerasimova^{1, 2}, N.V. Marchenko^{1, 2}, I.I. Tileubergenov¹

¹ Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg, Russian Federation

² St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Objective: to study the applicability of the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) for monitoring recipient status and for possible minimization of maintenance immunosuppression in the long-term period after liver transplantation (LT). **Materials and methods.** Blood samples of 19 recipients with satisfactory graft function were examined by flow cytometry at various time periods after LT using hematopoietic stem cell markers CD133, their CD31 derivatives, and alpha-fetoprotein (AFP), compared with the conventional NLR. **Results.** The use of NLR equivalents with CD133 and CD31 to assess liver transplant status is due to their high representation in liver

Для корреспонденции: Герасимова Ольга Анатольевна. Адрес: 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 70. Тел. (812) 439-66-40. E-mail: ren321@mail.ru

Corresponding author: Olga Gerasimova. Address: 70, Leningradskaya str, Pesochny, St. Petersburg, 197758, Russian Federation. Phone: (812) 439-66-40. E-mail: ren321@mail.ru

tissue. Their values change in the long-term posttransplant period (from 1.5 to 6–7 years following LT) \approx 20-fold and in different directions, but only when measuring their commissural to the liver cell fractions bearing the AFP marker. **Conclusion.** In contrast to the conventional NLR, maintenance of the lowest level of CD31 AFP, an NLR «equivalent», achieved at 1.5 years after LT, can be considered a criterion for the success of immunosuppressive therapy in the long-term post-LT period. The developed technique can be used to decide on whether to reduce or discontinue medication-assisted prophylaxis of graft rejection.

Keywords: neutrophil-to-lymphocyte ratio, hematopoietic stem cells (HSCs), CD133, CD31, alpha-fetoprotein, liver transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

С влиянием иммуносупрессивной терапии в отдаленном периоде после трансплантации печени (ТП) связан целый комплекс осложнений, которые ограничивают срок жизни реципиентов. Среди причин негативных исходов лидируют малигнизации, инфекции, кардиоваскулярные и нефрологические проблемы [1]. Поэтому актуальным является поиск рациональных путей ослабления нежелательных эффектов иммуносупрессии после ТП. Исходя из анализа современной литературы, минимизацию иммуносупрессии вплоть до полной ее отмены относят к основным подходам наряду с интраоперационной и отсроченной индукцией толерантности, индивидуализацией и рационализацией режимов с целью уменьшения частоты развития побочных эффектов препаратов. С клинической позиции толерантность определяется как сохранение стабильной функции трансплантата у реципиента, не принимающего иммунодепрессанты. К сожалению, результаты экспериментальных исследований, направленных на изучение механизмов толерантности, пока не выявили надежных биомаркеров толерантности [2]. При сложности и противоречивости молекулярных механизмов единственным надежным способом подтверждения толерантности является отсутствие отторжения после преднамеренного прекращения иммуносупрессии.

В поиске надежного контроля состояния реципиента при минимизации иммуносупрессии авторы обратили внимание на соотношение нейтрофилов к лимфоцитам крови (НЛО), которое принято считать простым и универсальным критерием тяжести различных патологических состояний человека [3]. Увеличение количества нейтрофилов в НЛО отражает воспаление, в то время как лимфопения связана с соматическим истощением и гипоцеллюлярностью кроветворной ткани [4]. НЛО может использоваться при отборе пациентов, перспективных для трансплантации [5]. НЛО, измеренное в течение 12 месяцев после трансплантации печени (ТП), предсказывает общую выживаемость в ближайшие 7–9 лет и тесно коррелирует с маркерами адекватности нутритивного статуса [6]. Укорочение теломер лимфоцитов с возрастом превосходит таковое гранулоцитов, свидетельствуя косвенно о большем расходе

юных клеток лимфоидного ряда для обеспечения жизнедеятельности организма, и возможно, о вкладе слабо дифференцированных лимфоидных клеток в формирование прогностических свойств показателя НЛО. Кроме того, часть юных клеток «коммитированы» к ткани печени присутствием маркера альфа-фетопротейна (АФП) [7–11].

Проблема длительного выживания, равно как и поддержания функционального состояния трансплантата печени, у части реципиентов может быть связана с истощением пролиферативного потенциала лимфоцитарного ростка костного мозга (произведение числа стволовых/прогениторных лимфоцитов крови на митотическую активность), величина которого лимитирует продолжительность жизни при естественном старении организма [12]. Однако прямые сведения о применении показателя с целью контроля объема иммуносупрессивной терапии в отдаленном периоде после ТП в литературе отсутствуют, с учетом всех особенностей незрелых клеток авторами предположено, что «аналоги» НЛО с такими клетками могут быть более чувствительным показателем по сравнению с общепринятым НЛО, в частности для решения проблем минимизации иммуноподавляющей терапии в отдаленном периоде.

Цель исследования: сравнительное изучение обычного НЛО и его «аналогов» с клетками крови низкой степени дифференцировки/зрелости для более надежного мониторинга состояния реципиентов и принятия дальнейших решений о минимизации поддерживающей иммуносупрессивной терапии в позднем периоде после ТП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты. Изучены результаты обследования 19 реципиентов трансплантата печени в лаборатории трансплантации и исследования стволовых клеток Российского центра радиологии и хирургических технологий им. А.М. Гранова (ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова», Санкт-Петербург). Пациентов наблюдали в сроки от 5 дней до 120 мес. после ТП, из них мужчин 9, женщин 10, средний возраст на момент операции $44,9 \pm 9,1$ года. В течение всего периода наблюдения выполняли клинический и биохимический анализ крови, УЗИ брюшной полости с эластометрией, контролировали концентрацию

такролимуса в крови и поддерживали ее на уровне 3–5 нг/мл. Рассчитывали среднее НЛО через 1, 3, 5 и 10 лет после ТП. Распределение по нозологическим вариантам перед ТП представлено на рис. 1. Удовлетворительной считали функцию трансплантата при отсутствии отклонений от нормативных значений билирубина, АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, ГГТП в сыворотке крови, при отсутствии нарушения кровообращения в трансплантате по данным УЗИ и МСКТ в динамике.

Материалы. Образцы крови объемом 7–8 мл были получены в различные сроки после ТП и проанализированы в день получения, без хранения. Жизнеспособность мононуклеарных клеток (МНК) из всей интерфазной зоны градиента плотности Фиколла контролировали с помощью теста на исключение трипанового синего. Перед цитометрическим фенотипированием клетки окрашивали в соответствии со стандартными процедурами для выявления форм в синтетической (S) и митотической фазах (M) клеточного цикла реагентом Hoechst 33342 (бис бензимидазольный флуорохром; Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США). CD133, CD31 клетки, CD133АФП и CD31АФП двойные положительные клетки окрашивали с использованием стандартного протокола Miltenyi Biotec для антител CD133/2, конъюгированных с аллофикоцианином (APC), протокола BD Bioscience Pharmingen для антител CD31, конъюгированных с изотиоцианатом флуоресцеина (FITC), и R&D Systems протокола для антител АФП, конъюгированных с фикоэритрином (PE). Использован проточный цитометр LSRFortessa (Бектон Дикинсон, Сан-Хосе, Калифорния, США). Фракции лимфоцитов и гранулоцитов разделяли на графиках прямого (FSC) и бокового (SSC) рассеяния света, клеточный мусор исключали. Красный лазер (640 нм, 40 МВт) использовали для обнаружения клеток CD133+, синий лазер (480 нм, 50 МВт) использовали для обнаружения клеток АФП и CD31 и ультрафиолетовый (UV) лазер (355 нм, 20 МВт) для клеток, меченных Hoechst 33342. Процент положительных клеток рассчитывали путем вычитания значения для антител соответствующего контрольного изотипа. Для обнаружения CD133-клеток дважды регистрировали не менее 500 000 событий. Точечный график излучения Hoechst 33342 в синей (ось x) и красной (ось y) длинах волн использовался для разделения событий (G0 + G1), S и (G2 + M) фаз. Отдельные параметры оценивались статистически с вычислением среднего значения M, стандартного отклонения ($\pm\sigma$) и стандартной ошибки ($\pm m$). Средние значения M сравнивались с использованием t-критерия Стьюдента и вероятности p. Взаимосвязи параметров на графиках анализировали путем аппроксимации точек данных линиями регрессии, которые автоматически выполняются и описываются математическими

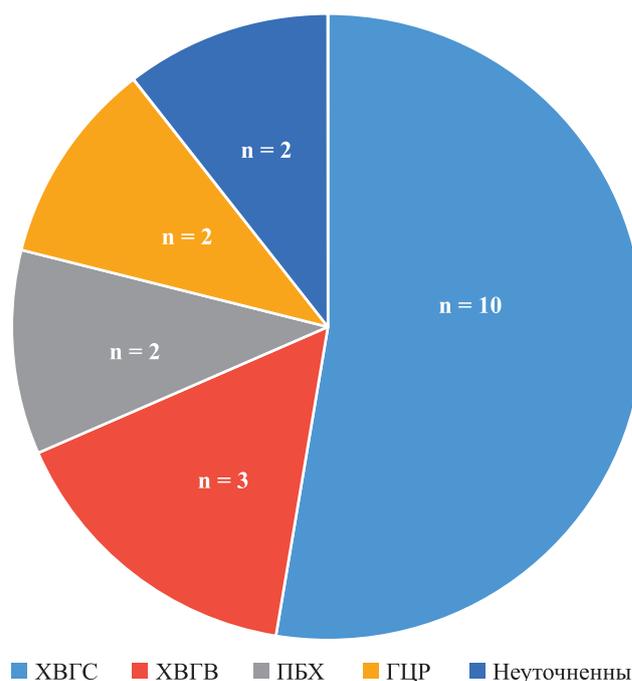


Рис. 1. Варианты цирроза печени перед ТП: ХВГС – хронический вирусный гепатит С; ХВГВ – хронический вирусный гепатит В; ПБХ – первичный билиарный холангит; ГЦР – гепатоцеллюлярный рак

Fig. 1. Variants of liver cirrhosis before LT: ХВГС – chronic viral hepatitis C; ХВГВ – chronic viral hepatitis B; ПБХ – primary biliary cholangitis; ГЦР – hepatocellular carcinoma; неуточненный – unspecified cirrhosis

функциями в программе Excel, включая коэффициент соответствия R^2 . На графиках представлены только те линии регрессии, которые имели максимальное значение R^2 , что означает предельное соответствие между расположением точек и выбранным типом аппроксимирующей кривой / математической функцией из всех, предлагаемых программой (линейная, экспоненциальная, показательная, логарифмическая, степенная, многочленная, параболическая). Уравнения для линий регрессии приведены на графиках. В качестве статистической меры соответствия линий регрессии данным, введенным в программу, использовали общепринятый критерий достоверности $p (\leq 0,05)$, определяемый по t-тесту $= R/m_R = \sqrt{R^2 \times (n-2) / (1-R^2)}$ [12]. Уравнения для линий регрессии приведены на графиках.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Рассчитанное среднее НЛО у реципиентов в сроки 3, 5, 10 лет достоверно не различалось, составляя $2,19 \pm 0,63$, $2,17 \pm 0,87$ и $2,1 \pm 0,58$ по данным клинического анализа крови. Динамика содержания нейтрофилов и лимфоцитов, по данным проточной цитометрии (рис. 2 и 3), разнонаправленна, указывает на максимальные средние величины НЛО до 7 в течение первых 10 дней после ТП, с последующей

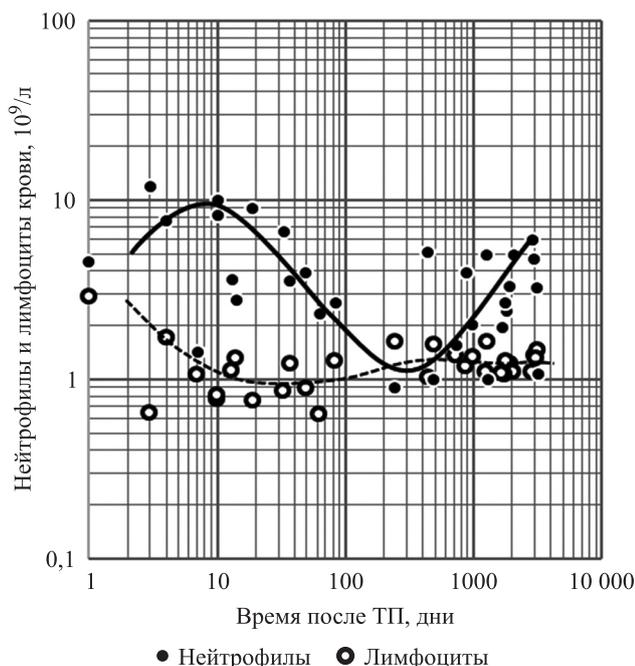


Рис. 2. Динамика лимфоцитов и нейтрофилов в течение длительного периода после ТП

Fig. 2. Dynamics of lymphocytes and neutrophils over a long period after LT

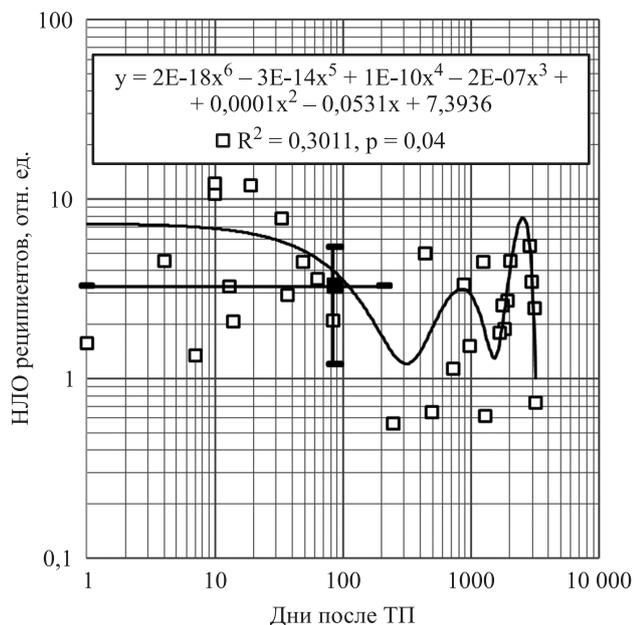


Рис. 3. Динамика обычного НЛО в течение раннего (до 350 дней) и позднего (до 3200 дней) периодов после ТП. Линия аппроксимации показывает вероятную динамику усредненного показателя ($p = 0,04$). Черный квадрат: среднее ($M \pm \sigma$) для НЛО 12 пациентов из листа ожидания ТП

Fig. 3. Dynamics of normal NLR within the early (up to 350 days) and late (up to 3200 days) periods after LT. The approximation line shows the likely dynamics of the average indicator ($p = 0.04$). Black square: mean ($M \pm \sigma$) for NLR of 12 patients from the LT waiting list

нормализацией до ≈ 1 к 250–500 дням, сменяющейся повторным длительным увеличением соотношения нейтрофилов к лимфоцитам до ≈ 4 к восьми годам после ТП. Поэтому все время исследования было разделено на относительно ранний и поздний периоды. Первичное снижение НЛО в относительно ранний, до полутора лет, период следует расценивать как позитивный эффект ТП. Оно начинается при средней величине, несколько большей, чем средний уровень НЛО у ожидающих трансплантацию (рис. 3, черный квадрат на графике), который был определен в более ранних исследованиях. Однако отклонения средних величин НЛО в ранний и особенно поздний периоды оказались сопоставимыми с уже известными из литературы данными, следовательно, не удовлетворяющими задачам исследования.

С течением времени после ТП процентное содержание лимфоцитов в синтетической фазе клеточного цикла (S-фаза) увеличивается, а соотношение митозов к синтезам (M/S) снижается (рис. 4). Среднее значение фазы S в позднем периоде ($2,98 \pm 0,74$) в 8 раз ($p = 0,003$) превышает значения раннего периода ($0,35 \pm 0,22$). Среднее отношение M/S в позднем периоде ($0,051 \pm 0,023$), наоборот, в 80 раз ($p = 0,003$) меньше среднего отношения раннего периода ($4,25 \pm 3,49$), что, однако, не подтверждается статистически ($p = 0,21$). Такое сочетание указывает на турбулентный режим пролиферации, классифицируемый как аномальный (синхронный). Тем не менее общий тренд к снижению M/S в объединенных периодах (пунктирная линия на рис. 4) подтверждается степенной аппроксимацией: $M/S = 5,13x^{-0,649}$, $R^2 = 0,362$, $p < 0,001$. Таким образом, синтез ДНК лимфоцитов в отдаленном периоде после ТП увеличивается, но это не сопровождается увеличением митотической активности, что указывает на турбулентный характер лимфоцитопозеза и повышенную вероятность апоптоза клеток в премитотическую фазу клеточного цикла. В целом синтетическая активность не удовлетворяет задаче исследования, хотя и дополняет характеристику отдаленного периода существенным дефицитом клеточных делений в нем.

Средние значения «аналогов» НЛО в относительно раннем и позднем периодах для субпопуляций CD133, CD133АФП, CD31, и CD31АФП представлены в таблице. В ней приведены значения только пулов гранулоцитов (Г), поскольку НЛО является результатом арифметического деления процентного содержания субпопуляции гранулоцитов на процентное содержание субпопуляции лимфоцитов. Гранулоцитарные составляющие НЛО и его аналогов кратно (не более 5) уменьшаются в отдаленном периоде, за исключением CD133АФП. Ожидаемого при этом снижения самих аналогов не происходит, за исключением CD31АФП, где оно непропорционально велико

(≈20-кратно), что свидетельствует о паритетном увеличении и лимфоцитарной составляющей данного аналога. Исходя из усредненных по периодам данных (табл.) и сравнения с обычным НЛЮ, субпопуляция

CD31АФП оказалась не только количественно, но и статистически предпочтительной.

Рассмотрение кинетических характеристик CD31АФП подтверждает и дополняет это заключение

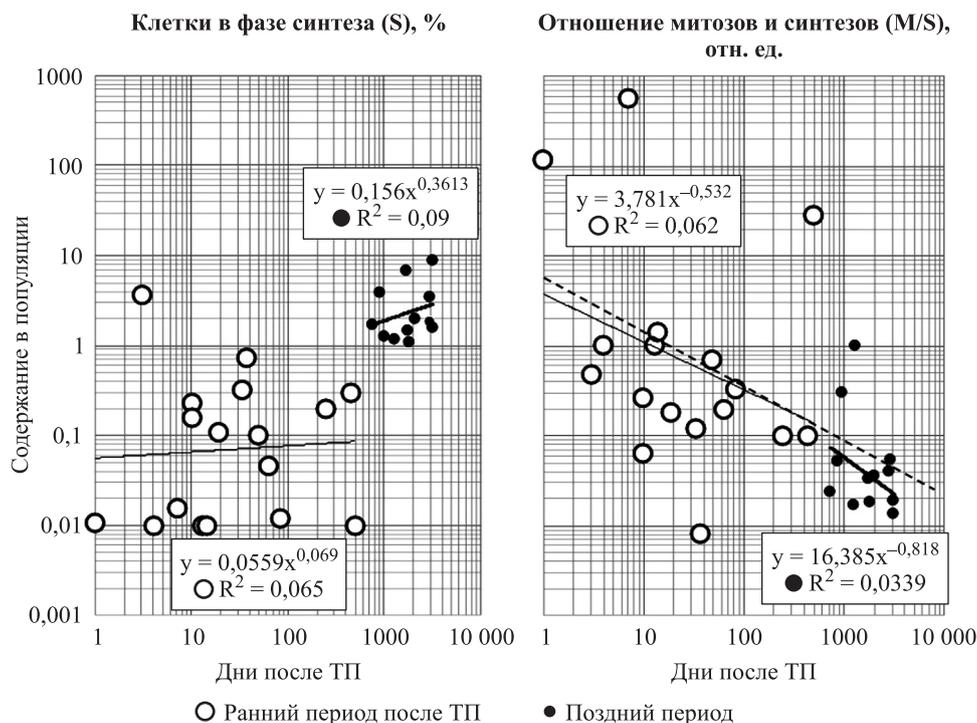


Рис. 4. Пролиферативная активность лимфоцитов после ТП. Пунктир – направленность изменений, общая для двух периодов. Значения р для всех уравнений >>0,05

Fig. 4. Proliferative activity of lymphocytes after LT. The dotted line is the direction of change common to the two periods. P values for all equations >>0.05

Таблица 1

Средние значения «аналогов» гранулоцитарно/лимфоцитарных отношений (M ± m) для субпопуляций CD133, CD133АФП, CD31, CD31АФП в относительно раннем (Р) и более позднем (П) периодах после ТП

Mean values of «equivalents» of granulocyte/lymphocyte ratios (M ± m) for CD133, CD133 AFP, CD31, CD31 AFP subpopulations at relatively early (E) and late (L) periods after LT

Параметры	Обычное НЛЮ*	«Аналоги» НЛЮ				Среднее время раннего и позднего периодов (M ± σ), дни
		CD 133	CD133АФП	CD31	CD31АФП	
Гранулоциты, %	5,27 ± 0,83*	0,72 ± 0,145	0,308 ± 0,096	59,04 ± 6,36	57,33 ± 6,44	Р 89 ± 153* П 29,7 ± 30
Гранулоциты, %	3,1 ± 0,42*	0,257 ± 0,043	0,527 ± 0,428	12,83 ± 2,01	10,72 ± 2,1	П 1891 ± 850* П 1937 ± 905
р (между периодами)	0,048*	0,008	0,62	<0,001	<0,001	<0,001* <0,001
НЛЮ	6,8 ± 1,83*	13,85 ± 3,78	48,9 ± 22,57	10,9 ± 4,97	229,86 ± 60,65	Р 89 ± 153* П 29,7 ± 30
НЛЮ	2,6 ± 0,39*	7,97 ± 2,57	44,81 ± 11,74	2,89 ± 0,79	10,58 ± 3,44	П 1891 ± 850* П 1937 ± 905
р (между периодами)	0,04*	0,21	0,53	0,13	0,003	<0,001* <0,001

Примечание. * – данные с обычным НЛЮ приведены для сравнения.

Note. * – Data with normal NLR are given for comparison.

ние (рис. 5). Раннее снижение НЛО-«аналога» для коммитированных к печени CD31АФП-клеток достоверно (рис. 5, в центре, табл.), в отличие от не-коммитированных CD31 (рис. 5, слева). Уменьшение значений аналога CD31АФП в раннем периоде происходит синфазно со снижением конвенционального показателя НЛО (рис. 3), что может трактоваться как благоприятный признак. Последующий подъем CD31АФП в отдаленном периоде формируется за счет параллельных подъема гранулоцитарного и падения лимфоцитарного компонентов «аналога» (рис 5, справа). Этот феномен может лежать в основе поздних проблем у реципиентов, связанных с поддерживающей иммуносупрессивной терапией. Кинетика изменений аналога CD133АФП (рис. 6, справа) инвертирована по отношению к «аналогу» CD31АФП. Значительное его снижение в отдаленном периоде ($p = 0,0015$) делает «аналог» CD133АФП вторым претендентом на определение состояния трансплантата, но только в поздние сроки, так как его средние величины в двух периодах достоверно не отличаются (табл.). Уменьшение CD133АФП в отдаленном периоде формируется за счет существенного снижения гранулоцитарного компонента в общем пуле CD133АФП и умеренного снижения лимфоцитарного компонента. Наиболее вероятным механизмом инверсии кинетических трендов CD31АФП-лимфоцитов и CD31АФП-гранулоцитов

в отдаленном периоде (рис. 5, справа) является то, что CD31-клетки являются ближайшими потомками СГК CD133 в ряду последовательной дифференцировки. В этом случае количественные изменения противоположной направленности возникают только при продукции клеток в режиме симметричного (истощенного) кроветворения, что подтверждается нарастающим дефицитом митотической активности (рис. 4).

Таким образом, выявлено два «аналога» НЛО – с CD133АФП и CD31АФП, перспективных для мониторинга реципиентов в отдаленном периоде, которые существенно превышают возможности конвенционального НЛО. Оба плавно и статистически достоверно изменяются на протяжении отдаленного периода \approx в 20 раз, тогда как конвенциональное НЛО практически не меняется (рис. 3, пунктир; рис. 6, слева) в сроки от 17 до 106 месяцев после ТП. Противоположно-направленные экспоненциальные изменения двух «аналогов» НЛО происходят с периодом удвоения \approx 1,5 года. Прогностические возможности этих показателей требуют дальнейших исследований в условиях минимизации иммуносупрессивной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из полученных данных, относительно ранний период от 0 до 1,5 года после ТП представ-

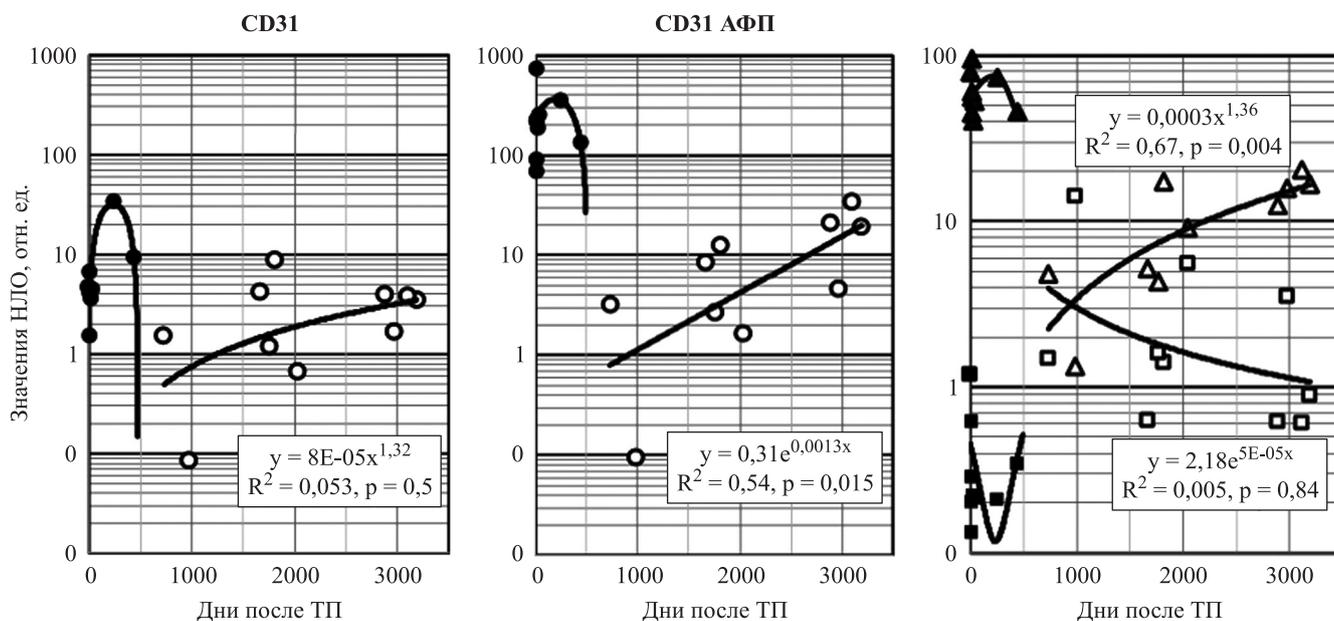


Рис. 5. Изменения показателей НЛО во времени после ТП для субпопуляций CD31 и CD31АФП. Черные значки – ранний период, белые значки – поздний период. Сплошные линии аппроксимации в программе Excel даны для обоих периодов. Уравнения для аппроксимирующих линий даны в боксах на графиках только для позднего периода. Круги – НЛО; треугольники – CD31АФП в гранулоцитарном пуле, %; квадраты – CD31АФП в лимфоцитарном пуле, %

Fig. 5. Changes in NLR scores over time after LT for CD31 and CD31AFP subpopulations. Black icons represent the early period, white icons represent the late period. Solid approximation lines in Excel are given for both periods. Equations for the approximation lines are given in the boxes on the graphs for the late period only. Circles, NLR; triangles, CD31AFP in the granulocyte pool in %; squares, CD31AFP in the lymphocyte pool in %

ляется оптимальным для выявления реципиентов, наиболее устойчивых к отторжению, по критерию максимального темпа снижения величины «аналога» CD31АФП. В течение позднего периода «аналог» НЛО CD31АФП неуклонно увеличивается. Параллельно происходит медленное истощение слабо дифференцированных, морфогенных, «коммитированных» к ткани печени CD31АФП-лимфоцитов. При этом противоположная динамика лимфоидного и миелоидного компонентов клеток CD31АФП может отражать постепенное истощение лимфопоэза с преобладанием миелоидного звена над истощающимся лимфоидным, подобно тому, как это происходит при естественном старении [13].

Существенное сокращение общего пула стволовых клеток CD133АФП среди гранулоцитов 133АФП ($p < 0,001$) наряду с умеренным снижением лимфоцитов 133 АФП ($p = 0,06$) формирует позднее снижение НЛО «аналога» CD133АФП. Поскольку в нормальной печени должна постоянно происходить репопуляция либо плюрипотентных, либо быстро делящихся юных клеток, АФП-позитивных, то выявленные изменения могут означать постепенно возрастающую угрозу жизнеспособности трансплантата и реципиента [14]. В отдаленном периоде после ТП можно предположить развитие процессов «деваascularизации» с последующим развитием фиброза, что требует дальнейшего изучения.

Если допустить влияние клеток из циркуляции на спектр мигрантов непосредственно в ткани трансплантированной печени, то он сначала нормализуется

до оптимального к 1–1,5 годам после ТП, а затем постепенно истощается к 8–9 годам.

Данные современных исследований доказывают морфогенные свойства СГК и их ближайших недифференцированных потомков, так, сравнительный анализ маркерного состава в нормальной печени показал, что он, подобно ткани плаценты, сильно поляризован в сторону преобладания юных клеток-мигрантов по сравнению с их содержанием в крови [15], СГК двойной позитивности CD34 и CD133 дают начало как ранним эндотелиальным предшественникам CD31 [16], так и лимфоидной линии стволовых клеток с маркером терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой TdT+ [15, 17–19]. Лиганд «программированной клеточной смерти» (PD-L1, CD274) играет важную роль в таких процессах, как трансплантация тканей, беременность, аутоиммунные заболевания, гепатит и т. д. [20]. Его экспрессия на циркулирующих CD34 гемопоэтических стволовых клетках тесно коррелирует с апоптозом Т-клеток. Апоптоз ассоциирован с последующей доставкой TdT в межклеточную среду и реутилизацией продуктов распада соседними жизнеспособными клетками в процессе регенерации [7]. Терминальный взаимодействующий белок дезоксирибонуклеотидил-трансферазы усиливает пролиферогенную активность TdT+ и сосудобразующие свойства клеток ГСК CD34 [20]. Поэтому, по мнению авторов, «аналоги» НЛО обладают большей информативностью при оценке состояния реципиента и трансплантата в отдаленном периоде после ТП, а также при попытках минимизации поддерживающей

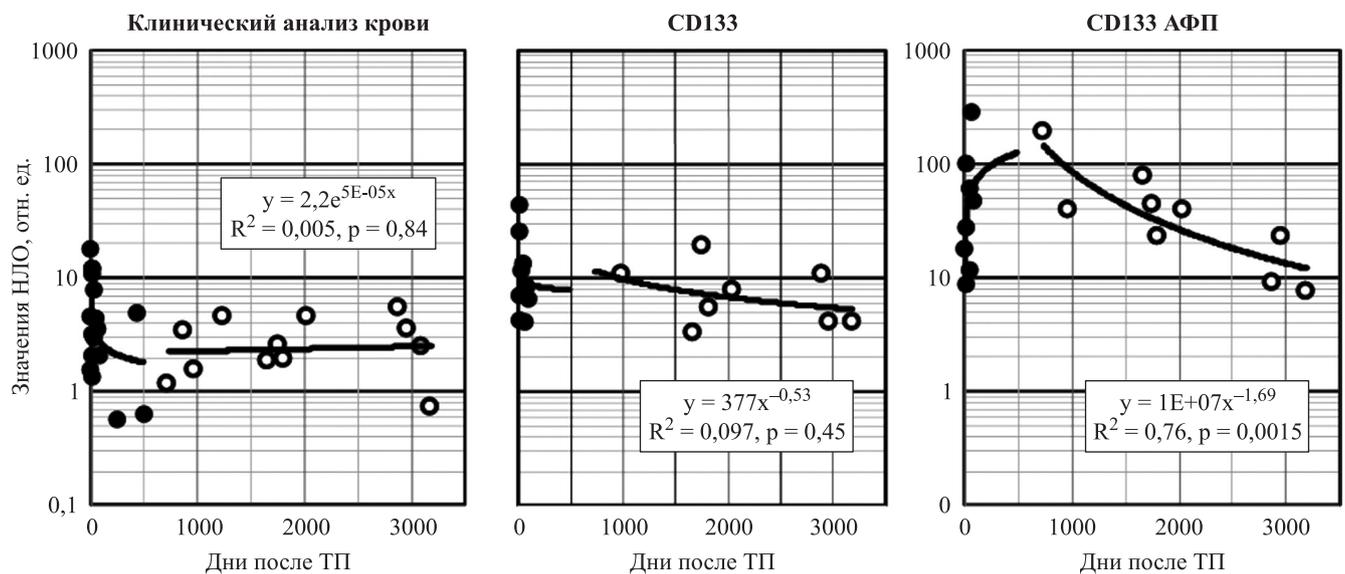


Рис. 6. Изменения показателей НЛО во времени после ТП для субпопуляций CD133 и CD133АФП. Черные значки – ранний период, белые значки – поздний период. Уравнения для аппроксимирующих линий представлены в боксах на графиках

Fig. 6. Changes in NLR scores over time after LT for CD133 and CD133AFP subpopulations. Black icons represent the early period, white icons represent the late period. Equations for the approximation lines are given in the boxes on the graph

иммуносупрессивной терапии в качестве компонента мониторинга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты исследования позволяют утверждать, что поддержание достигнутого к полутора годам после ТП наименьшего уровня «аналога» НЛО CD31АФП можно считать критерием адекватности поддерживающей иммуносупрессивной терапии в более отдаленном периоде. Разработанный способ мониторинга состояния реципиента и трансплантата печени может быть использован для принятия решения и мониторинга при сокращении или прекращении иммуносупрессии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Aberg F, Gissler M, Karlsen TH, Ericzon BG, Foss A, Rasmussen A et al. Differences in long-term survival among liver transplant recipients and the general population: a population-based Nordic study. *Hepatology*. 2015; 61 (2): 668–677. doi: 10.1002/hep.27538.
2. Шевченко ОП, Курабекова РМ, Цирульникова ОМ. Биомаркеры иммунной толерантности при трансплантации печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (3): 137–144. Shevchenko OP, Kurabekova RM, Tsiroulnikova OM. Biomarkers of immune tolerance in liver transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (3): 137–144. doi.org/10.15825/1995-1191-2016-3-137-144.
3. Луньков ВД, Маевская МВ, Цветаева ЕК, Мендес АГ, Жаркова МС, Ткаченко ПЕ, Ивашкин ВТ. Отношение нейтрофилов к лимфоцитам как предиктор неблагоприятного исхода у пациентов с декомпенсированным циррозом печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2019; 29 (1): 47–61. Lunkov VD, Maevskaya MV, Tsvetaeva EK, Mendez AG, Zharkova MS, Tkachenko PE, Ivashkin VT. Neutrophil to Lymphocyte Ratio as a Predictor of Adverse Outcome in Patients with Decompensated Liver Cirrhosis. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2019; 29 (1): 47–61. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-1-47-61.
4. Fock RA, Blatt SL, Beutler B, Pereira J, Tsujita M, de Barros FEV, Borelli P. Study of lymphocyte subpopulations in bone marrow in a model of protein-energy malnutrition. *Nutrition*. 2010; 26: 1021–1028. doi: 10.1016/j.nut.2009.08.026.
5. Angelico R, Parente A, Manzia TM. Using a weaning immunosuppression protocol in liver transplantation recipients with hepatocellular carcinoma: a compromise between the risk of recurrence and the risk of rejection? *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2017; 21 (2): 74. doi: 10.21037/tgh.2017.08.07. PMID: 29034347.
6. Pravisani R, Mocchegiani F, Isola M, Lorenzin D, Adani GL, Cherchi V et al. Postoperative trends and prognostic values of inflammatory and nutritional biomarkers after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021; 13 (3): 513. doi: 10.3390/cancers13030513. PMID: 33572776.
7. Lansdorp PM. Telomeres stem cells, and hematology. *Blood*. 2008; 111 (4): 1759–1766. doi: 10.1182/blood-2007-09-084913.
8. Lin BY, Zhou L, Geng L, Zheng ZY, Jia JJ, Zhang J et al. High neutrophil-lymphocyte ratio indicates poor prognosis for acute-on-chronic liver failure after liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2015; 21 (11): 3317–3324. doi: 10.3748/wjg.v21.i11.3317. PMID: 25805939.
9. Shoutko AN. The possible involvement of apoptotic decay of terminal deoxynucleotidyl transferase-positive lymphocytes in the reutilization of the extracellular DNA fragments by surrounding living cells. *Open J of Biophysics*. 2021; 11 (04): 371–382. doi: 10.4236/ojbi-phy.2021.114014.
10. Huang L, Zheng Y, Yuan X, Ma Y, Xie G, Wang W et al. Decreased frequencies and impaired functions of the CD31⁺ subpopulation in T_{reg} cells associated with decreased FoxP3 expression and enhanced T_{reg} cell defects in patients with coronary heart disease. *Clin Exp Immunol*. 2017; 187 (3): 441–454. doi: 10.1111/cei.12897. PMID: 27997991.
11. Шутко АН, Герасимова ОА, Марченко НВ, Жеребцов ФК. Индукция циркулирующих CD133⁺ стволовых лимфоцитов, коммитированных к ткани печени, у пациентов из листа ожидания трансплантации. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (4): 43–51. Shoutko AN, Gerasimova OA, Marchenko NV, Zherebtsov FK. Induction of circulating CD133⁺ stem cells committed to cirrhotic livers in waitlisted patients. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (4): 43–51. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-4-43-51.
12. Shoutko AN, Gerasimova OA, Ekimova LP, Zherebtsov FK, Mus VF, Matyurin KS et al. Lymphocyte reproductive activity normalized to numbers of hematopoietic stem cells in blood and rate of death in fatal diseases. *Int J of Genetics and Genomics*. 2017; 5: 54–62. doi: 10.11648/j.ijgg.20170505.12.
13. Lué A, Solanas E, Baptista P, Lorente S, Araiz JJ, Garcia-Gil A et al. How important is donor age in liver transplantation? *World J Gastroenterol* 2016 June 7; 22 (21): 4966–4976. doi: 10.3748/wjg.v22.i21.4966.
14. Lombard CA, Prigent J, Sokal EM. Human Liver Progenitor Cells for Liver Repair. *Cell Med*. 2013; 5 (1): 1–16. doi: 10.3727/215517913X666459.
15. Shoutko AN. Tissues Protein Microenvironment and Survival by Age at Cancers. *Acta Scientific Cancer Biology*. 2022; 6: 20–27. doi: 10.31080/ASCB.2022.06.0380.
16. Drzewiecki K, Choi J, Brancale J, Leney-Greene MA, Sari S, Dalgiç B et al. GIMAP5 maintains liver endothelial cell homeostasis and prevents portal hypertension. *J Exp Med*. 2021; 7 (218): e20201745. https://doi.org/10.1084/jem.20201745.

17. *Hu M, Li S, Menon S, Liu B, Hu MS, Longaker MT et al.* Expansion and hepatic differentiation of adult blood-derived CD34+ progenitor cells and promotion of liver regeneration after acute injury. *Stem Cells Transl Med.* 2016; 5 (6): 723–732. doi: 10.5966/sctm.2015-0268.
18. *Schwartzberg S, Mor A, Luboshits G, Planer D, Deutsch V, Keren G et al.* Association between circulating early endothelial progenitors and CD4+CD25+ regulatory T cells: A possible cross-talk between immunity and angiogenesis? *American Journal of Immunology.* 2005; 1 (4): 143–147. doi: 10.3844/ajisp.2005.143.147.
19. *Billaud M, Donnenberg VS, Ellis BW, Meyer EM, Donnenberg AD, Hill JC et al.* Classification and functional characterization of vasa vasorum-associated perivascular progenitor cells in human aorta. *Stem Cell Reports.* 2017; 9 (1): 292–303. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.04.028.
20. *Lee JU, Levit R, Yoon YS.* Human peripheral blood-derived CD31+ cells have robust angiogenic and vasculogenic properties and are effective for treating ischemic vascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56 (7): 593–607. doi: 10.1016/j.jacc.2010.01.070.
21. *Abdellatif H, Shiha G.* PD-L1 Expression on circulating CD34+ hematopoietic stem cells closely correlated with T-cell apoptosis in chronic hepatitis C infected patients. *Int J Stem Cells.* 2018; 11 (1): 78–86. doi: 10.15283/ijsc17047.

*Статья поступила в редакцию 20.03.2023 г.
The article was submitted to the journal on 20.03.2023*

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов»
можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

Подписной индекс нашего издания нашего издания в каталоге почты России – **ПН380**



Ф. СП-1	ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">ПН380</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; font-size: small;">(индекс издания)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; font-size: x-small;">количество комплектов</td> </tr> </table>	ПН380	(индекс издания)	количество комплектов																					
ПН380																										
(индекс издания)																										
количество комплектов																										
на 2023 год по месяцам																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 5%;">1</th><th style="width: 5%;">2</th><th style="width: 5%;">3</th><th style="width: 5%;">4</th><th style="width: 5%;">5</th><th style="width: 5%;">6</th><th style="width: 5%;">7</th><th style="width: 5%;">8</th><th style="width: 5%;">9</th><th style="width: 5%;">10</th><th style="width: 5%;">11</th><th style="width: 5%;">12</th> </tr> <tr> <td> </td><td> </td> </tr> </table>			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12															
Куда _____ <small>(почтовый индекс) (адрес)</small>																										
Кому _____ <small>(фамилия, инициалы)</small>																										
Ф. СП-1	ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ																									
ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА																										
на журнал																										
<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">ПН380</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; font-size: small;">(индекс издания)</td> </tr> </table>			ПН380	(индекс издания)																						
ПН380																										
(индекс издания)																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">ПВ</td> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">место</td> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">ли-тер</td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> </table>			ПВ	место	ли-тер																					
ПВ	место	ли-тер																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">стоимость</td> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">подписки пере-адресовки</td> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">руб.</td> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">коп.</td> <td style="width: 15%; font-size: x-small;">количество комплектов</td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>			стоимость	подписки пере-адресовки	руб.	коп.	количество комплектов																			
стоимость	подписки пере-адресовки	руб.	коп.	количество комплектов																						
на 2023 год по месяцам																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 5%;">1</th><th style="width: 5%;">2</th><th style="width: 5%;">3</th><th style="width: 5%;">4</th><th style="width: 5%;">5</th><th style="width: 5%;">6</th><th style="width: 5%;">7</th><th style="width: 5%;">8</th><th style="width: 5%;">9</th><th style="width: 5%;">10</th><th style="width: 5%;">11</th><th style="width: 5%;">12</th> </tr> <tr> <td> </td><td> </td> </tr> </table>			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12															
Куда _____ <small>(почтовый индекс) (адрес)</small>																										
Кому _____ <small>(фамилия, инициалы)</small>																										