

УДК 57.084.1

Выживаемость и устойчивость химеризма крови у мышей линии CBA после трансплантации костного мозга от доноров различного происхождения, несущих ген *EGFP*

Богданенко Е.В.¹, Сергиевич Л.А.², Карнаухов А.В.², Карнаухова Н.А.², Лизунова И.А.²

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».

142290, Московская область, Пушкино, ул. Институтская, д. 3

Актуальность Аллогенная трансплантация костного мозга (ТКМ) в медицине часто вызывает тяжёлое осложнение – реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ), снижающую выживаемость реципиентов. Несмотря на множество исследований, нет полного понимания, сочетание каких факторов способно свести феномен РТПХ к минимуму.

Цель исследования – поиск наилучших комбинаций пар «донор–реципиент» по полу и происхождению в зависимости от выживаемости и устойчивости химеризма крови при моделировании аллогенной и полуаллогенной трансплантации на мышах.

Материалы и методы Донорами костного мозга (КМ) являлись мыши, несущие ген *GFP* – разводимые на основе линий мышей *C57Bl/6* и реципрокные гибриды $F1 \text{ ♀CBA} \times \text{♂C57Bl/6 GFP}^+$ и $\text{♀C57Bl/6 GFP}^+ \times \text{♂CBA}$; реципиентами – животные инбредных линий CBA (аллогенная и полуаллогенная ТКМ) и *C57Bl/6* (сингенная ТКМ). За 1 день до ТКМ ($1,5 \times 10^7$ клеток на мышь) всех реципиентов облучали. От самок пересаживали КМ самцам и самкам, от самцов – только самцам. Под флуоресцентным микроскопом изучали каплю крови реципиентов без фиксации каждую неделю, начиная с 7-х суток после трансплантации.

Результаты. После аллогенной и полуаллогенной ТКМ максимальная выживаемость наблюдалась у самок-реципиентов при использовании в качестве доноров самок – 41 (22–330) сут. и 140,5 (107–218) сут. соответственно. Донорские тромбоциты и лейкоциты обнаруживались в крови большей части реципиентов всех групп через 7 дней после ТКМ; у части реципиентов они переставали детектироваться через 1–7 недель после полуаллогенной и аллогенной трансплантации. Потеря донорских клеток в ряде случаев приводила к достоверному повышению выживаемости реципиентов, особенно при аллогенной трансплантации.

Выводы. Во всех случаях полуаллогенной и аллогенной ТКМ комбинация донор♀–реципиент♀ была наилучшей, а комбинация донор♂–реципиент♂ – наихудшей для выживаемости реципиентов, независимо от степени их родства с донорами. При сингенной ТКМ все комбинации донор–реципиент оказались одинаково эффективными. Потеря химеризма может не уменьшать, а увеличивать выживаемость реципиентов.

Ключевые слова: РТПХ; трансплантация костного мозга; мыши; *GFP*; флуоресцентная микроскопия; аллогенная трансплантация; полная потеря химеризма.

Для цитирования: Богданенко Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухов А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А. Выживаемость и устойчивость химеризма крови у мышей линии CBA послетрансплантации костного мозга от доноров различного происхождения, несущих ген *EGFP*. Патогенез. 2021; 19(4): 30-40.

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.04.30-40

Для корреспонденции: Богданенко Елена Валентиновна, e-mail: lenabogdval@mail.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.11.2021

Survival and stability of blood chimerism in CBA mice after bone marrow transplantation from donors of various origin carrying the *EGFP* gene

Bogdanenko E.V.¹, Sergievich L.A.², Karnaukhov A.V.², Karnaukhova N.A.², Lizunova I.A.²

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology,

Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences,

Institutskaya St. 3, Pushchino of Moscow Region 142290, Russian Federation

Background. Allogeneic bone marrow transplantation (BMT) often causes a serious complication, graft-versus-host disease (GVHD), that reduces survival of recipients. Despite multiple studies, there is no complete understanding of what factor combination might minimize the phenomenon of GVHD.

The aim of the study was searching for the best combinations of donor-recipient pairs by sex and origin based on the survival and stability of blood chimerism using murine models of allogeneic and semi-allogeneic transplantation.

Materials and methods. The donors of bone marrow (BM) were mice carrying the GFP gene, which were derived from the C57Bl/6 strain, and reciprocal F1 hybrids ♀CBA × ♂C57Bl/6 GFP⁺ and ♀C57Bl/6 GFP⁺ × ♂CBA. The recipients were animals of inbred CBA (for allogeneic and semi-allogeneic BMT) and C57Bl/6 (for syngeneic BMT) strains. One day before BMT (1.5×10^7 cells per mouse), all recipients were irradiated. BM was transplanted from females to males and females and from males only to males. A drop of recipients' blood was examined under a fluorescent microscope without fixation every week, starting from day 7 after transplantation.

Results. The longest survival after allogeneic and semi-allogeneic BMT was observed in female recipients with using females as donors (41 (22–330) days and 140,5 (107–218) days, respectively). Donor platelets and leukocytes were found in the blood of most of the recipients of all groups at 7 days after BMT; in some recipients, these cells could not be detected any more at 1–7 weeks after semi-allogeneic and allogeneic transplantation. In a number of cases, complete loss of the donor cells resulted in a significant increase in survival of recipients, especially in allogeneic transplantation.

Conclusions The donor♀–recipient♀ combination was the best and the donor♂–recipient♂ combination was the worst for survival of recipients, regardless of their degree of relationship with donors, in all cases of semi-allogeneic and allogeneic BMT. In syngeneic BMT, all donor–recipient combinations proved to be equally effective. Complete loss of chimerism may prolong rather than shorten the survival time of recipients.

Key words: GVHD; bone marrow transplantation; mice; EGFP; fluorescence microscopy; allogeneic transplantation; full loss of chimerism.

For citation: Bogdanenko E.V., Sergievich L.A., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A. [Survival and stability of blood chimerism in CBA mice after bone marrow transplantation from donors of various origin carrying the EGFP gene]. *Pathogenesis [Pathogenesis]*. 2021; 19(4): 30–40 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.04.30-40

For correspondence: Bogdanenko Elena Valentinovna, e-mail: lenabogdval@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 03.11.2021

Введение

Трансплантация костного мозга (КМ) является основным способом лечения онкогематологических заболеваний. Залогом успеха этой процедуры считается совпадение показателей донора и реципиента по главному комплексу гистосовместимости – HLA. Полное совпадение по всем аллелям HLA обеспечено, если донор и реципиент являются однойцевыми близнецами. Трансплантация КМ от одного другому в таком случае является максимально успешной и называется сингенной [1]. Во всех остальных случаях, когда донор и реципиент отличаются генетически, даже при их полном совпадении по всем аллелям HLA, трансплантация КМ называется аллогенной [2]. Часто после такого рода трансплантации, даже при использовании в качестве доноров родных братьев, сестёр или родителей реципиентов возникает осложнение, выражающееся в поражении кожи и ряда внутренних органов и называемое реакцией «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Симптоматическое лечение, направленное на уменьшение острой или хронической РТПХ, далеко не всегда даёт эффект, выживаемость реципиентов снижается, и в ряде случаев исход трансплантации КМ является летальным.

Считается, что в основе механизма РТПХ лежит активация и экспансия донорских Т-клеток, распознающих и атакующих клетки хозяина. В исследовании Carlens et al. (1998) при анализе 551 пациента 5-летней кумулятивная частота хронической РТПХ составляла 45% [3]. В настоящее время появилась процедура очистки трансплантата от донорских Т-клеток, и указанный % уменьшился, но полное удаление таких клеток невозможно, поскольку они участвуют в защите организма реципиента, у которого при прекондиционировании химиотерапией или облучением подавлена

собственная иммунная система, от окружающих патогенов [2, 4]. Среди причин хронической РТПХ называют значительный возраст реципиента и острую РТПХ I–IV степени [3], однако соответствие пола донора и реципиента при трансплантации КМ, по всей вероятности, тоже имеет значение. Существуют антигены H-Y, относящиеся к классу малых антигенов гистосовместимости (MiHA) и кодируемые Y-хромосомой. В экспериментах на животных уже давно установлено, что на успешность трансплантации органов влияет H-Y антиген, и что несоответствие пола донора и реципиента может приводить к отторжению трансплантата [5]. В то же время эта закономерность при трансплантации КМ у людей игнорируется, что очевидно может приводить к летальному исходу [6]. Как минимум шесть из девяти генов-кандидатов H-Y у человека кодируют антигены, обнаруживаемые Т-клетками, и шесть кодируют антигены для В-клеток [7, 8]. В модельных экспериментах на мышах показано, что антиген H-Y недифференцированных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), а также эндотелиальных клеток, полученных из ЭСК, провоцирует Т- и В-клеточные реакции после их трансплантации самкам-реципиентам [9]. Пациенты с РТПХ и несоответствием по H-Y антигену имеют более низкую и безрецидивную выживаемость в течение 3 лет, чем пациенты с аналогичным антигеном, а также более высокую частоту как тяжелой острой РТПХ, так и обширного поражения органов при хронической РТПХ. Напротив, несоответствия по аутосомно кодируемому MiHA не оказывают негативного влияния на общую выживаемость [10]. В трансплантации гемопоэтических клеток отмечено, что у пациентов-мужчин, получивших трансплантат от женщин, хроническая РТПХ развивалась в 1,5–4,0 раза чаще, чем у тех, кто получал КМ от доноров-мужчин [3, 11].

Имеются данные и о развитии острой РТПХ после такого рода трансплантации [12, 13].

Однако, несмотря на большой перечень и тяжесть осложнений РТПХ, недостаточно работ по исследованию поведения донорских клеток в организме реципиента-человека, а также закономерностей, при соблюдении которых можно было бы уменьшить выраженность РТПХ. Кроме этого осложнения, при трансплантации КМ отмечаются случаи снижения уровня химеризма или полное отторжение трансплантата, необъяснимые с точки зрения HLA-совместимости [13]. В связи с указанными проблемами, не исследованными в достаточной мере, нами была произведена работа, целью которой были поиск наилучших комбинаций пар «донор–реципиент» по полу и генотипу, определяемых по максимальной выживаемости мышей после облучения и аллогенной или полуаллогенной трансплантации КМ, а также изучение химеризма клеток крови и его устойчивости в организме реципиентов. Полученные данные сравнивались с результатами сингенной трансплантации КМ.

Материалы и методы исследования

Работа одобрена этическим комитетом ФГБ-НУ «НИИОПП» (протоколы №1а от 03.04.2018, №4 от 07.10.2021). Животных содержали в виварии ИБК РАН на рационе из гранулированного корма.

В эксперименте в качестве доноров использовались мыши в возрасте 2–10 мес., несущие ген зеленого флуоресцентного белка (Enhanced Green Fluorescent Protein – EGFP, Tg(AC2B-EGFP)10sb/J) – чистопородные, разводимые на основе инбредной линии C57BL/6, и их гибриды с самцами и самками инбредной линии CBA 1-го поколения. Реципиентами были самцы и самки линий CBA и C57BL/6. Контролем эффективности трансплантаций мышам линии CBA служила выживаемость животных этой линии после облучения без трансплантации КМ и выживаемость мышей линии C57BL/6 после сингенной трансплантации КМ. Всего в работе было использовано 186 животных. При всех типах ТКМ учитывали пол донора и реципиента; подсадка КМ от самцов самкам не допускалась. Белок EGFP использовался как витальная метка для детекции клеток донора в организме реципиента.

КМ получали из бедренных костей донора, которые очищали от мягких тканей и растирали в фарфоровой ступке в 600 мкл фосфатно-солевого буфера (ФСБ). Полученную массу фильтровали через капронное сито с размером пор 70 мкм. Образовавшуюся суспензию доводили до объёма 500 мкл. КМ, полученный из двух бедренных костей одного донора, использовали для 3–4 реципиентов. $1,5 \times 10^7$ клеток донора в объёме 100 мкл вводили в хвостовую вену реципиенту, находящемуся в сознании, инсулиновым шприцем.

За 1 день до трансплантации костного мозга проводили тотальное однократное облучение всех мышей-ре-

ципиентов и контрольных животных на рентгеновской установке РУТ-250-15-2 для подавления иммунной реакции. Доза облучения составляла 6,5 Гр, мощность излучения – 1 Гр/мин.

Для определения наличия химеризма у мышей-реципиентов всех групп раз в неделю брали каплю крови из хвостовой вены.

Доноров и реципиентов забивали дисклокацией шейных позвонков в соответствии с инструкцией American Physiological Society (1995 г.).

Математическая обработка данных проводилась с использованием программ Microsoft Office Excel 2003 и Statistica 8,0. Результаты представлены как Me (min, max), где Me – медиана. Поскольку данные по выживаемости животных в одной из двух или в обеих сравниваемых комбинациях не подчинялась нормальному распределению, достоверность различий между ними сравнивали посредством непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Для одновременного сравнения данных по выживаемости мышей в трёх и более группах донор-реципиент использовался H-тест Крускала–Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA).

Результаты исследования

В начале работы мы сравнивали выживаемость самцов и самок мышей линии CBA по-отдельности после облучения и подсадки им КМ. Донорами для этих животных служили самцы и самки C57BL/6 GFP⁺ (аллогенная трансплантация), а также животные-гибриды ♀C57BL/6 GFP⁺ × ♂CBA и ♀CBA × ♂C57BL/6 GFP⁺ (полуаллогенная трансплантация).

Для выбора наилучших сочетаний доноров и реципиентов нами было произведено попарное сравнение выживаемости между группами донор♀–реципиент♀, донор♀–реципиент♂ и донор♂–реципиент♂ по Манн–Уитни. Во всех случаях наблюдалось достоверное преимущество комбинации донор♀–реципиент♀ над комбинацией донор♂–реципиент♂ для всех линейных сочетаний донора и реципиента (табл. 1). Аллогенная трансплантация КМ животным линии CBA от доноров C57BL/6 GFP⁺ показала минимальные значения выживаемости. В этом случае при сравнении выживаемости реципиентов после всех трёх вариантов трансплантации (донор♀–реципиент♀, донор♀–реципиент♂ и донор♂–реципиент♂) было подтверждено достоверно большее значение этого показателя у реципиентов-самок, получивших КМ от самок ($p = 0,0017$).

Для того чтобы понять, имелся ли вообще положительный эффект от такой трансплантации, мы сравнивали её результаты с данными по выживаемости реципиентов линии CBA после облучения без подсадки им КМ (облучённый контроль). После трансплантации КМ от самок C57BL/6 GFP⁺ медианная выживаемость самок линии CBA составила 39 (7–44) дней, самок – 41 (22–330) день против выживаемости без подсадки КМ для самок 12 (3–73) дней ($n = 27$) и для самок 16,5

(9–135) дней ($n = 30$). Данные различия были статистически значимы и в указанных случаях ($p = 0,0293$ и $p = 0,0001$ по Манну-Уитни соответственно), и при сравнении выживаемости самцов облучённого контроля и тех, которые получили КМ от самцов (23 (9–40) дня, $p = 0,0023$).

После полуаллогенной трансплантации КМ реципиентам линии СВА в случае использования в качестве доноров самок-гибридов ♀СВА × ♂С57BL/6 GFP⁺ самцы и самки показали близкие результаты по медианной выживаемости (39 (16–406) дней и 81 (33–306) день после облучения соответственно), не различающиеся достоверно. Максимальная медианная выживаемость наблюдалась у самок при использовании в качестве доноров самок-гибридов ♀С57BL/6 GFP⁺ × ♂СВА – 140,5 (107–218) дней, но достоверность преимущества последней комбинации над первыми двумя не была подтверждена с помощью теста Манна-Уитни. Однако при сравнении этой группы с двумя группами самок-реципиентов СВА, получивших КМ от самок других генотипов, с помощью Н-теста Крускала-Уоллиса была пока-

зана достоверность различий по выживаемости между ними ($p = 0,0380$). Показатели же выживаемости самцов СВА после трансплантации им КМ от самцов всех вариантов происхождения оказались низкими, очень близкими между собой и достоверно не отличались ($p = 0,8195$, $p > 0,05$).

Следующим этапом работы было сравнение всех уже описанных результатов с данными по выживаемости реципиентов линии С57BL/6 после сингенной трансплантации КМ от мышей С57BL/6 GFP⁺, так как это могло дать дополнительное представление об эффективности аллогенных и полуаллогенных подсадов КМ. После сингенной трансплантации для варианта донор♀–реципиент♀ выживаемость составила 175 (6–350) дней, для вариантов донор♀–реципиент♂ и донор♂–реципиент♂ – 231 (227–239) день и 195 (58–432) дней соответственно (табл. 1). Использование Н-теста Крускала–Уоллиса не выявило статистически значимого различия в выживаемости между данными группами ($p = 0,7146$). При попарном сравнении данных по выживаемости в группах донор♀–реципиент♀ и донор♀–

Таблица 1.

Выживаемость различных групп мышей после облучения с последующей трансплантацией КМ, дней (Me (min, max), (n)).

Линия реципиентов	№ п/п	Пол и генотип	Пол и генотип донора						Значимость различий между группами, p	
			С57BL/6 GFP ⁺		♀С57BL/6 GFP ⁺ × ♂СВА		♀СВА × ♂С57BL/6 GFP ⁺			
			1	2	3	4	5	6	По Манну-Уитни	По Крускалу-Уоллису
		♂ X ^b Y ^b	♀ X ^b X ^b	♂ X ^b Y ^c	♀ X ^b X ^c	♂ X ^c Y ^b	♀ X ^c X ^b			
СВА	1	♂ X ^c Y ^c	23 (9–40) (11)	39 (7–44) (6)	25 (8–49) (14)	—	22,5 (10–62) (8)	39 (16–406) (8)	1-1** и 1-2 – 0,0973; 1-1 и 3-1 – 0,0001*; 1-1 и 1-5 – 0,6797	1-1, 1-3 и 1-5 – 0,8195
	2	♀ X ^c X ^c	—	41 (22–330) (19)	—	140,5 (107–218) (4)	—	81 (33–306) (11)	2-4 и 2-2 – 0,0149*; 2-2 и 2-6 – 0,121	2-2, 2-4 и 2-6 – 0,0380*
С57BL/6	3	♂ X ^b Y ^b	195 (58–432) (10)	231 (227–239) (3)	—	—	—	—	3-1 и 3-2 – 0,3980; 3-1 и 4-2 – 0,8703; 3-2 и 4-2 – 0,5175	3-1, 1-1, 1-3 и 1-5 – 0,0001*; 3-2, 1-2 и 1-6 – 0,1205
	4	♀ X ^b X ^b	—	175 (6–350) (9)	—	—	—	—	4-2 и 2-4 – 0,3545; 4-2 и 2-6 – 0,1024 -	4-2, 2-2, 2-4 и 2-6 – 0,0036*
Значимость различий между группами, p	По Манну-Уитни		1-1** и 1-2 – 0,0973; 1-1 и 2-2 – 0,0005*	1-2 и 3-2 – 0,0202*; 3-2 и 1-6 – 0,2207; 4-2 и 2-2 – 0,0012*	1-3 и 1-1 – 0,9128; 1-3 и 1-5 – 0,4949	2-4 и 1-3 – 0,0029*; 2-4 и 1-6 – 0,1742; 2-4 и 2-6 – 0,3608	1-5 и 2-6 – 0,0132*	1-6 и 1-5 – 0,1152; 1-6 и 2-6 – 0,4089; 1-6 и 1-2 – 0,5186	—	—
	По Крускалу-Уоллису		1-1, 1-2 и 2-2 – 0,0017*; 3-1, 3-2 и 4-2 – 0,7146	—	—	—	1-5, 1-6 и 2-6 – 0,0412*	—	—	—

Обозначения статистической значимости межгрупповых различий: * – $p < 0,05$; ** – в нумерации групп первая цифра обозначает номер ряда, вторая – номер столбца; X^b, Y^b – принадлежность X- или Y-хромосомы к линии С57BL/6; X^c, Y^c – принадлежность X- или Y-хромосомы к линии СВА.

реципиент[♂] при сингенной трансплантации мышам линии C57BL/6 с имеющимися максимально удачными результатами аналогичных групп при полуаллогенной трансплантации КМ животным линии СВА – 140,5 (107–218) дней и 81 (33–306) дня соответственно – достоверных различий между ними обнаружено не было ($p = 0,3545$ и $p = 0,2207$). Во всех остальных случаях использование U-теста Манна–Уитни выявило достоверные различия по выживаемости между аналогичными комбинациями донор–реципиент как между сингенной и полуаллогенной, так и между и сингенной и аллогенной трансплантациями КМ.

Для обнаружения различий между аллогенной, полуаллогенной и сингенной трансплантациями КМ на клеточном уровне нами были исследованы динамика наличия в крови реципиентов донорских клеток и особенности их поведения. Под флуоресцентным микроскопом изучали раздавленную каплю крови реципиентов без фиксации 1 раз в неделю, начиная с 7-х суток после трансплантации, так как уже с этого времени у большей части реципиентов всех групп в крови обнаруживались флуоресцирующие зрелые донорские клетки – тромбоциты и лейкоциты. Тромбоциты лежали дискретно или небольшими скоплениями, десятками или сотнями в поле зрения; лейкоцитов насчитывалось единицы или десятки.

Через 14 суток во всех группах наблюдалось множество тромбоцитов; часть донорских лейкоцитов передвигалась, изменяясь от округлых до вытянутых. После сингенной ТКМ такие лейкоциты вытягивались в длину не более чем в 2 раза от исходного размера и имели при этом овальную форму с небольшими выростами (рис. 1). В то же время после аллогенной трансплантации они часто приобретали червеобразную форму с 3–4 перетяжками и были в 2 раза длинней, чем самые длинные лейкоциты после сингенной (рис. 2), причём передвигались значительно быстрее первых. Также только после аллогенной ТКМ нами было отмечено наличие передвигающихся макрофагов донорского происхождения (рис. 3).

После полуаллогенной трансплантации лейкоциты демонстрировали промежуточный характер активности. Однако у некоторой части животных в промежутке от 1 до 5 недель после аллогенной и в промежутке от 1 до 7 недель после полуаллогенной трансплантации донорские клетки в крови переставали детектироваться, чего никогда не наблюдалось после сингенной. В некоторых случаях при полуаллогенной трансплантации с использованием в качестве доноров гибридов ♀C57BL/6 GFP⁺ × ♂СВА и при аллогенной трансплантации и комбинации донор♀–реципиент♀ – реципиенты с потерей химеризма в среднем умирали значительно позже, чем в случае, когда донорские клетки остава-

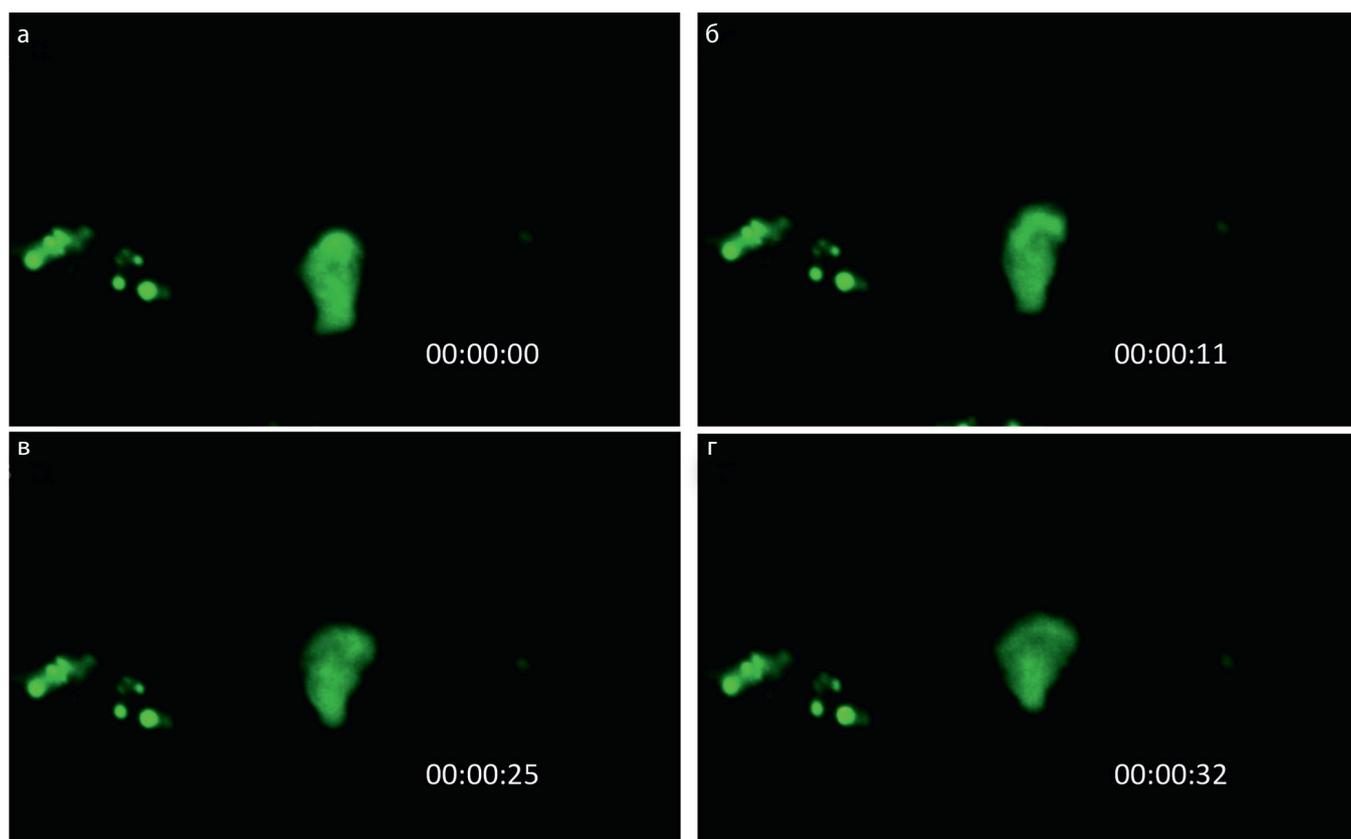


Рис. 1. Передвижение донорского лейкоцита в капле крови реципиента линии C57BL/6 после сингенной ТКМ. 00:00:00 – начало отсчёта движения в часах, минутах и секундах от кадра а) до кадра г) Ув. × 400.



Рис. 2. Передвижение донорского лейкоцита в капле крови реципиента линии СВА после аллогенной ТКМ. 00:00:00 – начало отсчёта движения в часах, минутах и секундах от кадра а) до кадра г). Ув. × 400.

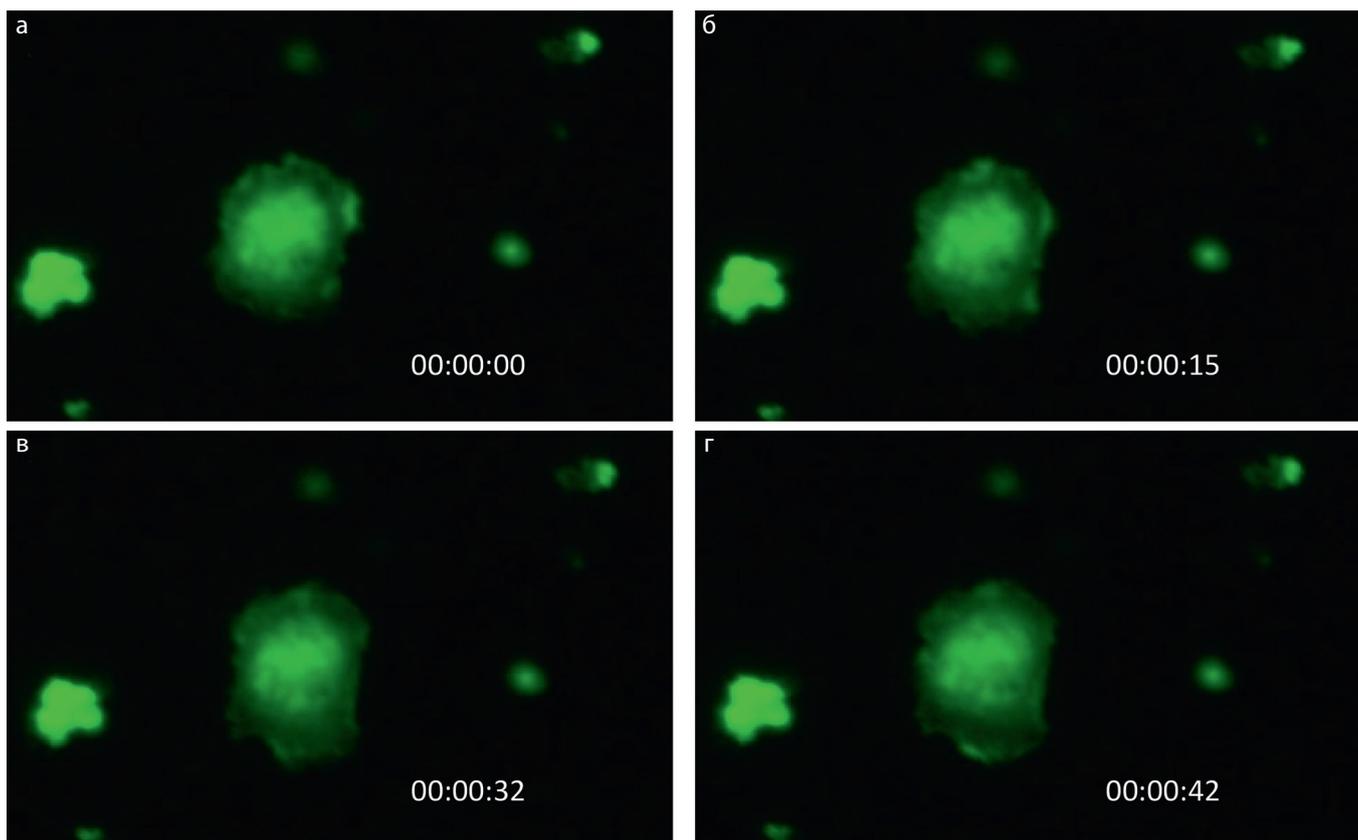


Рис. 3. Передвижение донорского макрофага в капле крови реципиента линии СВА после аллогенной ТКМ. 00:00:00 – начало отсчёта движения в часах, минутах и секундах от кадра а) до кадра г). Ув. × 400.

лись в организме животного до смерти (табл. 2). После аллогенной трансплантации и последующей потери донорских клеток животные могли жить до 9 месяцев после облучения без видимых признаков лучевого поражения или РТПХ.

Обсуждение

В нашей работе во всех случаях подсадки КМ от самцов самкам не допускались, поскольку в экспериментах на животных давно установлено, что подобное несоответствие пола донора и реципиента может приводить к отторжению трансплантата [5].

Трансплантация КМ от мышей C57BL/6 GFP⁺ животным линии C57BL/6 обоего пола моделировала сингенную (в случае, если донор и реципиент были особями одного пола) или родственную аллогенную подсадку КМ между сёстрами и братьями у людей с полным соответствием по HLA (с использованием в обоих случаях термина «сингенная», поскольку животные C57BL/6 GFP⁺ разводятся на основе линии C57BL/6 братско-сестринскими спариваниями и отличаются от последних только на один ген в аутосоме). Инбредные животные имеют идентичный генотип, и мы ожидали, что не будет генетических причин, негативно влияющих на выживаемость реципиентов. Действительно, этот показатель колебался в узких границах от 175 (6–350) дней

для варианта донор♀–реципиент♀ до 231 (227–239) дня для варианта донор♀–реципиент♂ при отсутствии достоверного различия в выживаемости между данными группами ($p = 0,5175$).

Полуаллогенная трансплантация КМ мышам CBA от гибридов ♀GFP⁺ × ♂CBA и ♀CBA × ♂GFP⁺ моделировала родственную аллогенную подсадку КМ у человека с неполным соответствием по HLA, так как известно, что линии CBA и C57BL/6 имеют несколько отличий по лейкоцитарным антигенам [14]. В случае использования в качестве доноров гибридов ♀CBA × ♂GFP⁺ трансплантация КМ мышам CBA происходила по типу «дочь–мать» (донор♀–реципиент♀), «дочь–отец» (донор♀–реципиент♂) и «сводный брат по матери – сводный брат по матери» (донор♂–реципиент♂). Трансплантация КМ мышам CBA от гибридов ♀GFP⁺ × ♂CBA соответствовала вариантам «дочь–мать» (донор♀–реципиент♀), «сестра–брат» (донор♀–реципиент♂) и «сын–отец» (донор♂–реципиент♂). Наилучшим оказался вариант трансплантации КМ самкам CBA от самок-гибридов ♀C57BL/6 × ♂CBA, несколько хуже была комбинация с самками-гибридами ♀CBA × ♂C57BL/6. В обоих случаях одна из X-хромосом у доноров была от линии CBA. Известно, что у женского эмбриона в раннем периоде развития в каждой клетке одна из двух X-хромосом инактивируется случайным образом, что в дальнейшем наследуется

Таблица 2

Выживаемость реципиентов линии CBA в зависимости от сохранения или потери химеризма после трансплантации клеток КМ различного происхождения

Доноры	№ п/п	Пол донора	Выживаемость после трансплантации, дней (Me (min, max) (n))							
			Реципиенты-самцы				Реципиенты-самки			
			Без потери клеток	С потерей клеток	Сроки потери клеток, нед.	Отличие по Манну-Уитни, p	Без потери клеток	С потерей клеток	Сроки потери клеток, нед.	Отличие по Манну-Уитни, p
			1	2	3	4	5	6	7	8
C57BL/6 GFP ⁺	1	♂	21,5 (9–35) (10)	40 (1)	1	—	—	—	—	—
	2	♀	39 (7–44) (6)	—	—	—	39 (22–106) (17)	278 (226–330) (2)	1-5	0,024*
♀ C57BL/6 GFP ⁺ × ♂CBA	3	♂	31 (9–48) (11)	9 (8–49) (3)	1-2	0,436	—	—	—	—
	3	♀	—	—	-	-	182 (146–218) (2)	121 (107–135) (2)	2-4	-
♀CBA × ♂C57BL/6 GFP ⁺	5	♂	17 (10–20) (4)	47,5 (25–62) (4)	2-3	0,021*	—	—	—	—
	6	♀	47 (16–406) (5)	37 (29–41) (3)	2-3	0,248	31 (13–46) (3)	124,5 (43–305) (8)	2-7	0,025*

Обозначения статистической значимости межгрупповых различий: * – $p < 0,05$ (между группами 5-1 и 5-2, 6-5 и 6-6, 2-5 и 2-6).

всем потомством эмбриональной клетки и приводит к мозаицизму женского организма, при котором одновременно существуют две популяции клеток, в одной из которых экспрессируются гены X-хромосомы материнского, в другой – отцовского происхождения [15]. В таком случае в нашей работе были возможны два варианта трансплантации. В первом примерно половина самок-реципиентов линии СВА должна была получить костномозговые клетки, у которых была активной X-хромосома только этой линии или только линии C57BL/6 вследствие того, что все они происходили от одной клетки-предшественницы. Во втором случае клеток-предшественниц, у которых случайным образом происходила инактивация X-хромосомы линии СВА, на момент наступления этого явления было несколько, и одна часть костномозговых клеток донора имела активную X-хромосому линии СВА, а вторая часть – активную X-хромосому линии C57BL/6. Следовательно, или приблизительно половина самок-реципиентов линии СВА получала донорские клетки КМ с «родной» активной X-хромосомой или, возможно, все самки получали приблизительно половину донорских клеток с такой X-хромосомой независимо от происхождения гибрида. Этим могут объясняться близкие между собой результаты по выживаемости реципиентов, получивших КМ от наших реципрокных гибридов-самок. Эти данные подтверждают литературные сведения о том, что несоответствия только по аутосомно кодируемым малым антигенам гистосовместимости не оказывают негативного влияния на выживаемость [10], поскольку клетки КМ от гибридов с активной X-хромосомой линии СВА имели несоответствия только по таким антигенам.

Минимальный результат по выживаемости самцов после трансплантации им КМ от самцов противоречит утверждению о том, что лучшим донором является молодой представитель мужского пола [16]. Такой результат был получен и в том случае, когда Y-хромосома донора-гибрида ♀СВА × ♂C57BL/6 и реципиента линии СВА была одинаковой, и когда эта хромосома была от разных линий, но линии СВА принадлежала X-хромосома донора ♀СВА × ♂GFP⁺ и реципиента. Вероятно, для длительной выживаемости реципиента необходимо совпадение его генотипа с генотипом донора как по X-, так и по Y-хромосоме, что в отношении людей соответствует данным родных братьев, унаследовавших одну и ту же X-хромосому от матери (что происходит с вероятностью 50%).

Трансплантации КМ самкам и самцам СВА от самок-гибридов оказалась несколько менее эффективной, чем сингенная, но выживаемость животных оказалась более 100 дней. Продолжительность же жизни самцов после полуаллогенной трансплантации им КМ от самцов-гибридов не превышала 25 (8–49) дней. Эти результаты в совокупности с данными об активном и быстром передвижении донорских лейкоцитов в крови реципиентов по срав-

нению с их поведением после сингенной трансплантации позволяют предположить, что в первом случае у реципиентов имелась хроническая, а во втором – острая РТПХ.

У облучённого контроля линии СВА различие по выживаемости между самцами и самками при использовании теста Манна-Уитни было достоверным ($p = 0,0449$), что позволило сделать вывод, что радиочувствительность самцов этой линии выше, чем самок. Он не противоречит результатам, полученным на мышцах различных линий, о большей чувствительности мужского пола к облучению [14]. Аллогенная трансплантация КМ животным линии СВА от мышей линии C57BL/6 GFP⁺ моделировала неродственную аллогенную подсадку КМ у людей с неполным соответствием по HLA. После дозы облучения в 6,5 Гр и аллогенной трансплантации КМ от самок C57BL/6 GFP⁺ выживаемость самцов линии СВА была приблизительно в 1,5, самок – в 2,5 раза больше, чем без использования подсадки КМ, т.е. эффект после такой подсадки был, но кратковременный. Вероятно, смерть реципиентов наступала от острой РТПХ, что визуально подтверждалось наличием в их крови быстро передвигающихся сильно сегментированных флуоресцирующих лейкоцитов. В случае пожизненного сохранения химеризма крови максимальные результаты по выживаемости были получены при полуаллогенных подсадках КМ от самок-гибридов ♀СВА × ♂ C57BL/6 GFP⁺ самцам и от самок-гибридов ♀C57BL/6 GFP⁺ × ♂СВА самкам линии СВА, что лишь ненамного ниже результатов сингенной трансплантации (табл. 2). Однако вследствие малых размеров выборок отличие эти величин от результатов по выживаемости реципиентов после соответствующих подсадов с потерей химеризма было недостоверным или его нельзя было оценить. В то же время в случае потери химеризма в трёх случаях из пяти, пригодных для сравнения по Манну-Уитни, выживаемость самцов при полуаллогенных подсадках КМ от самцов-гибридов ♀СВА × ♂C57BL/6 GFP⁺ и самок СВА при аллогенной трансплантации оказались достоверно большей, чем в случае сохранения донорских клеток до конца жизни. Вероятно, организм получал после таких трансплантаций возможность восстановить собственное кроветворение, несмотря на почти полулетальную дозу облучения [14, 17], и изгнать чужеродные клетки, что прекращало РТПХ и позволяло продолжать жить облучённым животным.

Снижение уровня химеризма клеток крови или его потеря, смешанный химеризм трансплантологами всего мира признаётся однозначно отрицательным явлением при пересадке КМ. Реакция «трансплантат против хозяина» в ряде случаев признаётся полезной, поскольку борьба донорских иммунных клеток с клетками организма хозяина одновременно является борьбой с возможным рецидивом лейкоза [18]. Однако РТПХ приводит к значительному ухудшению качества жизни реципиентов, а в ряде случаев и к их смерти.

Облучение или химиопрепараты сами по себе значительно подрывают здоровье пациентов, тем не менее в настоящее время наилучшим прекондиционированием предлагается считать сочетание этих двух видов воздействия [19]. Нам представляется, что тотальное облучение тела может быть оптимальным режимом прекондиционирования. При дозе тотального облучения в 14–15 Гр фракциями менее 2 Гр, несопоставимо меньшей, чем уровень суммарных доз, достигаемых при локальной лучевой терапии (> 60 Гр), происходит радиационная стерилизация диссеминированных злокачественных, особенно лейкозных, клеток [20], а именно это, а не уничтожение иммунной системы больного, должно быть конечным результатом такого лечения. При этом транзиторная, а не постоянная химеризация организма реципиента может быть оптимальным способом восстановления пациентов после радиотерапии. Поскольку в клинической практике довольно часто у реципиентов обнаруживается смешанный химеризм или его потеря, то, вероятно, должен существовать режим облучения и трансплантации, который не будет приводить к гибели здоровых долгоживущих (long-term) стволовых клеток КМ реципиента, что даст им возможность восстановить у их хозяина собственное нормальное кроветворение. Существование высокой устойчивости таких клеток к облучению доказывается необходимостью использования иммуносупрессивной терапии после трансплантации КМ, а возможность выживания реципиентов после вытеснения донорских клеток уже показана на человеке [19]. Есть мнение, что для восстановления спонтанного кроветворения достаточно сохранения менее 1% стволовых клеток костного мозга хозяина, и что количество жизнеспособных трансплантированных клеток бывает значительно меньше необходимого их числа даже для временного приживания трансплантата [17]. Следовательно, полученные нами данные о длительном выживании мышей-реципиентов после аллогенной и полуаллогенной трансплантации КМ с последующей полной потерей химеризма могут подтверждать возможность разработки протокола по терапии злокачественных заболеваний КМ, не требующего создания и поддержания полного химеризма у реципиентов.

Выводы

1. При аллогенной и полуаллогенной трансплантации КМ наилучшей оказалась комбинация донор♀–реципиент♀, минимально эффективной – комбинация донор♂–реципиент♂, независимо от степени родства донора и реципиента.

2. При сингенной трансплантации КМ все комбинации донор–реципиент оказались одинаково эффективными.

3. Потеря химеризма в ряде случаев не уменьшала, а увеличивала выживаемость реципиентов.

- Gorin N.C., Labopin M., Boiron J.M., Theorin N., Littlewood T., Slavin S., Greinix H., Cahn J.Y., Alessandrino E.P., Rambaldi A., Nagler A., Polge E., Rocha V., Acute Leukemia Working Party of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. Results of genotypical hemopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning for acute myelocytic leukemia: higher doses of stem cells infused benefit patients receiving transplants in second remission or beyond - the acute leukemia working party of the european cooperative group for blood and marrow transplantation. *Clin. Oncol.* 2006; 24(24): 3959–3966. DOI: 10.1200/JCO.2006.05.5855
- Chao N.J., Blume K.G. Bone marrow transplantation. Part I – Allogeneic. *West. J. Med.* 1989; 151(6): 638–643.
- Carlens S., Ringdén O., Remberger M., Lönnqvist B., Hägglund H., Klaesson S., Mattsson J., Svahn B.M., Winiarski J., Ljungman P., Aschan J. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22(8): 755–761. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701423
- Vossen J. Allogeneic bone marrow transplantation: relation between chimaerism and immunity. *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.* 1998; 60(2): 111–143; discussion 143–145.
- Eichwald E.J., Lustgraaf E.C., Weissman I., Strainer M. Attempts to demonstrate sex-linked histocompatibility genes. *Transplant. Bull.* 1958; 5(4): 387–388. DOI: 10.1097/00006534-195810000-00036
- Körbling M., Katz R.L., Khanna A., Ruifrok A.C., Rondon G., Albitar M., Champlin R.E., Estrov Z. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346(10): 738–746. DOI: 10.1056/NEJMoa3461002
- Zorn E., Miklos D.B., Floyd B.H., Mattes-Ritz A., Guo L., Soiffer R.J., Antin J.H., Ritz J. Minor histocompatibility antigen DBY elicits a coordinated B and T cell response after allogeneic stem cell transplantation. *J. Exp. Med.* 2004; 199(8): 1133–1142. DOI: 10.1084/jem.20031560
- Eljaafari A., Yuruker O., Ferrand C., Farre A., Addey C., Tartelin M.-L., Thomas X., Tiberghien P., Simpson E., Rigal D., Scott D. Isolation of human CD4/CD8 double-positive, graft-versus-host disease-protective, minor histocompatibility antigen-specific regulatory T cells and of a novel HLA-DR7-restricted HY-specific CD4 clone. *J. Immunol.* 2013; 190(1): 184–194. DOI: 10.4049/jimmunol.1201163
- Hu X., Kueppers S.T., Kooreman N.G., Gravina A., Wang D., Tediashvili G., Schlickeiser S., Frensch M., Nikolau C., Thiel A., Marcus S., Fuchs S., Velden J., Reichenspurner H., Volk H.D., Deuse T., Schrepfer S. The H-Y antigen in embryonic stem cells causes rejection in syngeneic female recipients. *Stem Cells Dev.* 2020; 29(18): 1179–1189. DOI: 10.1089/scd.2019.0299
- Dzierzak-Mietla M., Markiewicz M., Siekiera U., Mizia S., Koclega A., Zielinska P., Sobczyk-Kruszelnicka M., Kyrzc-Krzemien S. Occurrence and impact of minor histocompatibility antigens' disparities on outcomes of hematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched sibling donors. *Bone Marrow Research.* 2012; 257086. DOI: 10.1155/2012/257086
- Spierings E., Kim Y.H., Hendriks M., Borst E., Sergeant R., Canossi A., Oudshoorn M., Loiseau P., Dolstra H., Markiewicz M., Leffel M.S., Pereira N., Kircher B., Turpeinen H., Eliaou J.-F., Gervais T., Laurin D., Enczmann J., Martinetti M., Thomson J., Oguz F., Santarone S., Partanen J., Siekiera U., Alessandrino E.P., Kalayoglu S., Brand R., Goulmy E. Multicenter analyses demonstrate significant clinical effects of minor histocompatibility antigens on GvHD and GvL after HLA-matched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(8): 1244–1253. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.06.001
- Remberger M., Mattsson J., Hassan Z., Karlsson N., LeBlanc K., Omazic B., Okas M., Sairafi D., Ringdén O. Risk factors for acute graft-versus-host disease grades II–IV after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation with unrelated donors: a single centre study. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41(4): 399–405. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705913

13. Szuszcies C.J., Hasenkamp J., Jung W., Koch R., Trümper L., Gerald G., Wulf G.G. Loss of donor chimerism in remission after allogeneic stem cell transplantation of T-prolymphocytic leukemia patients following alemtuzumab induction therapy. *Int. J. Hematol.* 2014; 100(5): 425–428. DOI 10.1007/s12185-014-1678-8
14. Бландова З.К., Душкин В.А., Малащенко А.М., Шмидт Е.Ф. *Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований*. М.: Наука, 1983. 172 с.
15. Belmont J.W. Genetic control of X inactivation and processes leading to X-inactivation skewing. *Am. J. Hum. Genet.* 1996; 58(6): 1101–1108.
16. Dubois V., Amokrane K., Beguin Y., Bruno B., Chevallier P., Delbos F., Devillier R., Giannoli C., Guidicelli G., Harif M., Loiseau P., Rouzair P.O., Varlet P., Yakoub-Agha I., Nguyen S. Haploidentical hematopoietic stem cell transplant: How to choose the best donor? Guidelines from the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC). *Bull. Cancer* 2020; 107(1C): 72–84. DOI: 10.1016/j.bulcan.2019.07.011
17. Ярмоненко С.П. *Радиобиология человека и животных*. М.: Высшая школа, 1988. 424 с.
18. Petersen S.L. Alloreactivity as therapeutic principle in the treatment of hematologic malignancies. Studies of clinical and immunologic aspects of allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *Dan. Med. Bull.* 2007; 54(2): 112–139.
19. Bacigalupo A., Socie G., Lanino E., Prete P., Locatelli F., Locasciulli A., Cesaro S., Shimoni A., Marsh J., Brune M., Van Lint M.T., Rosi Oneto R., Passweg J., Severe Aplastic Anemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants, in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA Working Party. *Haematologica*. 2010; 95(6): 976–982. DOI: 10.3324/haematol.2009.018267
20. Wheldon T.E. The radiobiological basis of total body irradiation. *Br. J. Radiol.* 1997; 70(840): 1204–1207. DOI: 10.1259/bjr.70.840.9505837
8. Eljaafari A., Yuruker O., Ferrand C., Farre A., Addey C., Tartelin M.-L., Thomas X., Tiberghien P., Simpson E., Rigal D., Scott D. Isolation of human CD4/CD8 double-positive, graft-versus-host disease-protective, minor histocompatibility antigen-specific regulatory T cells and of a novel HLA-DR7-restricted HY-specific CD4 clone. *J. Immunol.* 2013; 190(1): 184–194. DOI: 10.4049/jimmunol.1201163
9. Hu X., Kueppers S.T., Kooreman N.G., Gravina A., Wang D., Teddiashvili G., Schlickeiser S., Frentsch M., Nikolaou C., Thiel A., Marcus S., Fuchs S., Velden J., Reichenspurner H., Volk H.D., Deuse T., Schrepfer S. The H-Y antigen in embryonic stem cells causes rejection in syngeneic female recipients. *Stem Cells Dev.* 2020; 29(18): 1179–1189. DOI: 10.1089/scd.2019.0299
10. Dzierzak-Mietla M., Markiewicz M., Siekiera U., Mizia S., Koclega A., Zielinska P., Sobczyk-Kruszelnicka M., Kyrzc-Krzemien S. Occurrence and impact of minor histocompatibility antigens' disparities on outcomes of hematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched sibling donors. *Bone Marrow Research*. 2012; 257086. DOI: 10.1155/2012/257086
11. Spierings E., Kim Y.H., Hendriks M., Borst E., Sergeant R., Canossi A., Oudshoorn M., Loiseau P., Dolstra H., Markiewicz M., Leffel M.S., Pereira N., Kircher B., Turpeinen H., Eliaou J.-F., Gervais T., Laurin D., Enczmann J., Martinetti M., Thomson J., Oguz F., Santarone S., Partanen J., Siekiera U., Alessandrino E.P., Kalayoglu S., Brand R., Goulmy E. Multicenter analyses demonstrate significant clinical effects of minor histocompatibility antigens on GvHD and GvL after HLA-matched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(8): 1244–1253. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.06.001
12. Remberger M., Mattsson J., Hassan Z., Karlsson N., LeBlanc K., Omazic B., Okas M., Sairafi D., Ringdén O. Risk factors for acute graft-versus-host disease grades II–IV after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation with unrelated donors: a single centre study. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41(4): 399–405. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705913
13. Szuszcies C.J., Hasenkamp J., Jung W., Koch R., Trümper L., Gerald G., Wulf G.G. Loss of donor chimerism in remission after allogeneic stem cell transplantation of T-prolymphocytic leukemia patients following alemtuzumab induction therapy. *Int. J. Hematol.* 2014; 100(5): 425–428. DOI 10.1007/s12185-014-1678-8
14. Бландова З.К., Душкин В.А., Малащенко А.М., Шмидт Е.Ф. *[Strains of laboratory animals for biomedical research]*. Moscow: Nauka, 1983. 172 p. (in Russian)
15. Belmont J.W. Genetic control of X inactivation and processes leading to X-inactivation skewing. *Am. J. Hum. Genet.* 1996; 58(6): 1101–1108.
16. Dubois V., Amokrane K., Beguin Y., Bruno B., Chevallier P., Delbos F., Devillier R., Giannoli C., Guidicelli G., Harif M., Loiseau P., Rouzair P.O., Varlet P., Yakoub-Agha I., Nguyen S. Haploidentical hematopoietic stem cell transplant: How to choose the best donor? Guidelines from the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC). *Bull. Cancer* 2020; 107(1C): 72–84. DOI: 10.1016/j.bulcan.2019.07.011
17. Ярмоненко С.П. *[Radiobiology of human and animals]*. Moscow: Vysshaya shkola, 1988. 424 p. (in Russian)
18. Petersen S.L. Alloreactivity as therapeutic principle in the treatment of hematologic malignancies. Studies of clinical and immunologic aspects of allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *Dan. Med. Bull.* 2007; 54(2): 112–139.
19. Bacigalupo A., Socie G., Lanino E., Prete P., Locatelli F., Locasciulli A., Cesaro S., Shimoni A., Marsh J., Brune M., Van Lint M.T., Rosi Oneto R., Passweg J., Severe Aplastic Anemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants, in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA Working Party. *Haematologica*. 2010; 95(6): 976–982. DOI: 10.3324/haematol.2009.018267
20. Wheldon T.E. The radiobiological basis of total body irradiation. *Br. J. Radiol.* 1997; 70(840): 1204–1207. DOI: 10.1259/bjr.70.840.9505837

References

1. Gorin N.C., Labopin M., Boiron J.M., Theorin N., Littlewood T., Slavin S., Greinix H., Cahn J.Y., Alessandrino E.P., Rambaldi A., Nagler A., Polge E., Rocha V. Acute Leukemia Working Party of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. Results of genoidentical hemopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning for acute myelocytic leukemia: higher doses of stem cells infused benefit patients receiving transplants in second remission or beyond - the acute leukemia working party of the european cooperative group for blood and marrow transplantation. *Clin. Oncol.* 2006; 24(24): 3959–3966. DOI: 10.1200/JCO.2006.05.5855
2. Chao N.J., Blume K.G. Bone marrow transplantation. Part I – Allogeneic. *West. J. Med.* 1989; 151(6): 638–643.
3. Carlens S., Ringdén O., Remberger M., Lönnqvist B., Hägglund H., Klaesson S., Mattsson J., Svahn B.M., Winiarski J., Ljungman P., Aschan J. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22(8): 755–761. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701423
4. Vossen J. Allogeneic bone marrow transplantation: relation between chimaerism and immunity. *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.* 1998; 60(2): 111–143; discussion 143–145.
5. Eichwald E.J., Lustgraaf E.C., Weissman I., Strainer M. Attempts to demonstrate sex-linked histocompatibility genes. *Transplant. Bull.* 1958; 5(4): 387–388. DOI: 10.1097/00006534-195810000-00036
6. Körbling M., Katz R.L., Khanna A., Ruirok A.C., Rondon G., Albitar M., Champlin R.E., Estrov Z. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346(10): 738–746. DOI: 10.1056/NEJMoa3461002
7. Zorn E., Miklos D.B., Floyd B.H., Mattes-Ritz A., Guo L., Soiffer R.J., Antin J.H., Ritz J. Minor histocompatibility antigen DBY elicits a coordinated B and T cell response after allogeneic stem cell transplantation. *J. Exp. Med.* 2004; 199(8): 1133–1142. DOI: 10.1084/jem.20031560

Сведения об авторах:

Богданенко Елена Валентиновна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химической и экологической патофизиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-3351-3916>

Сергиевич Лариса Анатольевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микроспектрального анализа клеток и клеточных систем Института биофизики клетки Российской академии наук — обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0001-7710-4703>

Карнаухов Алексей Валерьевич — кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микроспектрального анализа клеток и клеточных систем Института биофизики клетки Российской академии наук — обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0003-3488-2067>

Карнаухова Наталья Алексеевна — старший научный сотрудник лаборатории микроспектрального анализа клеток и клеточных систем Института биофизики клетки Российской академии наук — обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0002-8606-4739>

Лизунова Ирина Анатольевна — младший научный сотрудник лаборатории микроспектрального анализа клеток и клеточных систем Института биофизики клетки Российской академии наук — обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»