

ное согласие на участие в данном исследовании. Среди пациентов, принявших участие в исследовании, было 6 мальчиков и 9 девочек в возрасте от 3 до 6 лет. Группой контроля стали дети, находящиеся в детских садах (2 группы детей по 7 и 8 человек в возрасте от 5 до 6 лет), в общей сложности 15 человек (7 мальчиков; 8 девочек).

## Результаты

Практически во всех играх детей-пациентов роль врача исполняли сами дети. Только 1 ребенок отказался исполнять и роль врача и роль пациента. На роль «пациента» дети выбирали игрушку, предложенную психологом, собственные игрушки, маму и/или медицинского психолога. Продолжительность игры 15-20 минут. Пациенты в процессе игры предпочли настоящие медицинские инструменты (медицинский шприц, лейкопластырь, иглу-катетер «бабочка» и реже таблетки), нежели игрушечные. Чаще пациенты выбирали шприц и лейкопластырь. Из интервью с мамами стало известно, что для детей наиболее неприятными из медицинских процедур являются постановка инъекций и «переклейка катетера». Все дети из детского сада для манипуляций чаще всего использовали настоящие медицинские инструменты. Группа детей №1 чаще использовала медицинский шприц, иглу-катетер «бабочка», медицинский лейкопластырь, салфетки марлевые и таблетки. Группа детей №2 выбирала – медицинский шприц и медицинский бинт. Из всех медицинских игрушек обе группы детей чаще всего выбирали фонендоскоп, градусник, жидкие лекарства. Один пациент категорически отказался доставлять «игрушке-пациенту» болезненные ощущения. Остальные пациенты проявляли сочувствие к «игрушке-пациенту», поглаживали ее, в том числе по тем местам, куда была сделана инъекция или наложен лейкопластырь, использовали ласковые слова («немно-

го потерпите»; «все будет хорошо»), желали выздоровления, и обнимали своих «пациентов». Один ребенок злился на своего «пациента», говоря: «Пусть тебе тоже будет больно». Дети из первой группы детского сада ругались на «игрушку-пациента» и говорили: «Сама виновата, что заболела». Дети из второй группы чаще всего проявляли сочувствие, подбадривали «игрушку-пациента», говорили, что «процедуры важны для выздоровления, и их нужно потерпеть». Исходя из беседы с воспитателями: детям первой группы за неделю до игры делали прививки. У детей второй группы подобной медицинской процедуры не было. Дети второй группы демонстрировали более гуманное отношение к своим «пациентам», нежели дети первой группы.

## Выводы

1) В игре дети чаще всего используют те медицинские инструменты, которые доставляют им наибольший дискомфорт и/или болевые ощущения. 2) С помощью манипулирования предметами в игре, дети показывают свое состояние во время и после прохождения медицинских процедур, которые им наиболее неприятны. 3) С помощью манипулирования медицинскими инструментами в игре, дети выражают отрицательные эмоции по отношению к медицинским манипуляциям, при этом отрицательные эмоциональные реакции по-разному могут подавляться родителями пациента и/или медицинским персоналом. 4) Травматичность опыта прохождения медицинских процедур детьми и отношение к детям окружающих их взрослых в период заболевания, влияет на отношение самих детей к другим заболевшим.

## Ключевые слова

Психология, игра, дети, лечение, эмоции.

# Potentials and prospects of using a confocal microscopy for the HLA-Crossmatch result evaluation in bone marrow transplantation patients

Albert R. Muslimov, Alexander S. Timin, Yury A. Serov

Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children's Hematology, Oncology, and Transplantation, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russia

Contacts: Dr. Youri A. Serov

E-mail: yserov@yahoo.com

## Introduction

Currently, it has become progressively ostensible that the role of the anti-donor antibody against HLA class I and II antigens is not limited to their participation in the development of hyperacute rejection of allografts. An increasing number of researchers are inclined to believe that the formation of anti-donor HLA antibody in the posttransplant period leads to the development of hyperacute, acute or chronic rejection. The immunological compatibility test between donor and re-

ipient for transplantation is the critical factor for deciding whether to perform a transplant. Antibodies to HLA founded in more than 30% of the population; their detection indicates a prior immunization with HLA. It is possible with multiple transfusion of whole blood, during pregnancy and after transplantation. A number of authors making a point that the donor non-specific antibodies to HLA are one of the factors not only of the risk of acute but also chronic rejection of the transplant and are considered as a poor prognostic indicator [P.I. Terasaki, 2006; M. Morrel, 2011; M. Crespo, 2011].

## Aim

The purpose of the lymphocyte crossmatch is to detect the lymphocytotoxic antibodies specific to a potential donor (i.e., allogeneic crossmatch) or self (i.e., autologous crossmatch.) A forward crossmatch used with serum from a prospective recipient (or donor for reverse crossmatch) and the target cells are the mononuclear cells of the potential donor (or recipient for reverse crossmatch). The target cells used may be unseparated or separated into specific subsets such as T cell lymphocytes, B cell lymphocytes, monocytes, etc. Evaluation of the results of the HLA-Crossmatch reaction is highly subjective by simple optical microscopy because it is impossible to accurately calculate the number of dead cells at the Terasaki camera view field and subtract the background (the results of negative control). It is also problematic to estimate to which class of HLA (I or II) antibodies belong.

## Materials and methods

We developed a methodology for evaluating the results of HLA-crossmatch using a confocal microscope of the bone marrow transplantation patients. The entire HLA-crossmatch reaction performed by a standard method, except for the last two steps: staining and evaluation of the viability of lymphocytes in the wells. We used Acridine Orange (AO emission 525 nm) and Propidium Iodide (PI – 620 nm) as

vital dyes. To stain B-lymphocytes, anti-CD19 monoclonal antibodies conjugated to PE-Cyanine7 (775 nm) were used. The images taken with a ZEISS confocal microscope, followed by image analysis with the ImageJ software (National Institutes of Health), and then calculating the results with the program.

## Conclusions

The advantages of the proposed method of evaluation are as follows: (1) In one well, a single serum sample of the recipient is analyzed for the presence of antibodies against donor HLA antigens simultaneously at both I and II classes. (2) The method is fast, accurate and high-performance (in one Terasaki plate, up to 72 sera samples can be analyzed in one run). (3) The high sensitivity of fluorescent label reading. (4) Presence of a multilevel system of various controls. (5) The ability to archive the results obtained in the program database for interpretation and PDF reports. (6) Subjective biases of the data analysis are minimized by statistical processing of the data by software.

## Keywords

HLA, HLA-crossmatch, bone marrow transplantation, confocal microscopy.

# Возможности и перспективы использования конфокальной микроскопии для оценки результатов перекрестного типирования HLA у пациентов с трансплантацией костного мозга

Альберт Р. Муслимов, Александр С. Тимин, Юрий А. Серов

Институт детской гематологии, онкологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

## Введение

В последние годы становится все более очевидным, что роль анти-донорских HLA антител, направленных против антигенов HLA класса I и II не ограничивается их участием в развитии сверхострого отторжения аллотрансплантатов. Все большее число исследователей склонны считать, что образование анти-донорских HLA антител в посттрансплантационный период приводит к развитию ускоренного острого, острого или хронического отторжения. Тест на иммунологическую совместимость между донором и реципиентом при трансплантации является решающим показателем для принятия решения о проведении трансплантации. Антитела к HLA обнаруживаются более чем у 30% населения, их выявление свидетельствует о предшествующей иммунизации HLA. Она возможна при многократном переливании цельной крови, во время беременности и после трансплантации. Ряд авторов отмечает, что донор неспецифические антитела к HLA являются одним из факторов не только риска острого, но и хронического отторжения трансплантата и учитываются, как плохой прогностический показатель [P.I.Terasaki, 2006; M. Morrel, 2011; M. Crespo, 2011].

## Цель

Целью теста HLA-Crossmatch является обнаружение лимфоцитотоксических антител, специфичных для потенциального донора (то есть аллогенный перекрестный кроссматч) или у самого себя (то есть аутологичный перекрестный HLA-Crossmatch). Прямой HLA-Crossmatch, используется с сывороткой от предполагаемого реципиента (или донора для обратного HLA-Crossmatch) и клетками-мишенями являются мононуклеарные клетки потенциального донора (или реципиента для обратного HLA-Crossmatch. Используемые клетки-мишени могут быть не разделены или разделены на определенные группы, такие как Т- лимфоциты, В- лимфоциты, моноциты и т. д. Оценка результатов реакции HLA-Crossmatch крайне субъективна при простой оптической микроскопии, т.к. невозможно точно посчитать количество мертвых клеток в поле зрения камеры Теракаки и вычесть фон (результаты негативного контроля). Невозможна так же оценка к какому классу HLA (I или II) принадлежат антитела.

## Материалы и методы

Нами был разработан метод оценки результатов HLA-

Crossmatch с использованием конфокального микроскопа у пациентов с трансплантацией костного мозга. Вся постановка реакции HLA-Crossmatch проводилась стандартным методом, кроме последнего этапа: окраски и оценки жизнеспособности лимфоцитов в лунках. Мы использовали Акридиновый Оранжевый (АО – эмиссия 525 нм) и Пропидиум Йодид (PI – 620 нм) как витальные красители. Для окраски В лимфоцитов использовались анти-CD19 моноклональные антитела, конъюгированные с PE-Cyanine7 (775 нм). Результаты регистрировались с помощью ZEISS конфокального микроскопа с последующим анализом изображений программным продуктом ImageJ (National Institutes of Health) с последующим обчетом результатов нами созданной программой.

## Выводы

Предложенный нами метод оценки имеет следующие преимущества: 1) В одной лунке производится анализ

одной сыворотки реципиента на наличие антител против донорских антигенов HLA одновременно и по I, и по II классу; 2) Метод является быстрым, точным и высокопроизводительным (в одной камере Тerasaki за один запуск можно проанализировать до 72 сывороток); 3) Высокая чувствительность считывания флуоресцентной метки; 4) Наличие многоуровневой системы различных контролей; 5) Возможность архивирования полученных результатов в базе данных программы для интерпретации и PDF отчетов; 6) Субъективная оценка в анализе результатов сведена к минимуму за счет статистической обработки полученных данных программным обеспечением.

## Ключевые слова

HLA, перекрестный подбор HLA, трансплантация костного мозга, конфокальная микроскопия.

# Peculiarities of psychosexual development of adolescents after hematopoietic stem cell transplantation

Svetlana I. Oleshko, Alisa G. Volkova, Ludmila S. Zubarovskaya, Boris V. Afanasyev

R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, and Chair of Hematology, Transfusiology and Transplantology at the First I. P. Pavlov State Medical University of St. Petersburg

Contacts: Svetlana I. Oleshko

E-mail: sgort@mail.ru

## Introduction

Transplantation of hematopoietic stem cells (HSCT) is one of the leading methods of treatment in patients with blood system diseases, primary immunodeficiency syndromes and genetic diseases. At the same time, the quality of life in patients in the long-term after HSCT significantly differs from the quality of life of healthy people of the same age. Deformations in psychosexual development including problems in the gender identity formation cause social isolation of adolescents, which makes their sexual self-realization impossible and significantly reduces the quality of their life. Hence, the aim of our study was an assessment of the level of gender identity formation of adolescents and psychosexual development correlation to the normal adolescents of the same age.

## Materials and methods

In 2018, on the base of the Department of Recovery Medicine, the Clinic of the Research Institute of Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children's Oncology, Hematology and Transplantation, we conducted a prospective study of 13 families. The respondents were: 1) parents/guardians of patients accompanying them in the process of examination; 2) adolescents who underwent HSCT treatment and undergo planned examinations at the clinic in the posttransplant period (after D + 100), (n=13, of which 6 girls and 7 boys, age 12-17 years, from the date of HSCT 1-5 years). The following methods were used to assess gender identity: Specially de-

veloped questionnaires for teenagers and parents; questionnaire by Sandra L. Bem (Sandra L. Bem, 1974); projective techniques "The Human Picture", "The non-existent animal"; Max Lüscher's color choices test.

## Results

The traditional type of gender identity that characterizes the high masculinity in male respondents and the high femininity rates of female respondents in 100% of cases were not revealed. Both among girls and among boys, the androgynous type predominates with a tendency towards femininity. On average, the adolescents evaluate themselves a little more courageous than their mothers, with rare exceptions, regardless of gender. This confirms the thesis we received in the previous study that parents tend to see and encourage complacency in adolescents of both sexes, passivity to the detriment of leadership, dedication, and independence. All 100% of the teenagers, who participated in the test, demonstrate the displacement of the aggression topic, 77% have some signs of avoiding sexual self-determination, rejection of their body, sex and age. 92% of patients do not communicate with their peers. In 44% of them, negative emotions prevail over positive ones. A third of the test participants show an expressed favor for rest and minimization of their efforts.

## Conclusions

The characteristics of family upbringing of adolescents who have undergone HSCT often contribute significantly to lim-