

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Попова Наталья Николаевна

«Реконституция субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после
трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток»

14.01.21– Гематология и переливание крови

диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
д.м.н., профессор,
акад. РАН Савченко В.Г.

Москва – 2020

Оглавление

Введение	4
Актуальность темы исследования	4
Цель работы	5
Задачи исследования	5
Научная новизна и практическая значимость работы	6
Положения, выносимые на защиту	6
Степень достоверности и апробация результатов	7
Публикации	7
Объем и структура работы	8
Глава 1. Обзор литературы	9
1.1 Реконституция иммунной системы после алло-ТГСК	9
1.2 Факторы, влияющие на реконституцию иммунной системы после алло-ТГСК	11
1.2.1 Влияние источника трансплантата и клеточного состава трансплантата на восстановление иммунной системы после алло-ТГСК	11
1.2.2 Варианты алло-ТГСК и выбор донора.....	13
1.2.3 CMV статус пары донор/реципиент	15
1.2.4 Режимы предтрансплантационного кондиционирования	16
1.2.5 Режимы профилактики острой РТПХ	18
1.3 Реконституция Т-клеточного звена иммунной системы. Роль тимуса	22
1.4 Т-клетки памяти	26
1.5 Функциональные особенности Т-клеток	31
Заключение	35
Глава 2. Материалы и методы	36
2.1 Клиническая характеристика больных	36
2.2 Предтрансплантационное кондиционирование	37
2.3 Варианты алло-ТГСК	38
2.4 Профилактика острой реакции «трансплантат против хозяина»	39
2.5 Объем исследований и временной регламент	40
2.6 Многоцветная проточная цитометрия	42
2.7 Статистический анализ данных	45
Глава 3. Результаты исследования	46
3.1 Клинические результаты исследования	46

3.2 Влияние режима профилактики острой РТПХ на результаты алло-ТГСК у больных острыми лейкозами	48
3.3 Исследование Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга у здоровых доноров	53
3.4 Реконституция Т-клеток памяти у пациентов после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ	55
3.5 Динамика восстановления субпопуляций Т-клеток памяти у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ	71
3.6 Распределение субпопуляций Т-клеток памяти в костном мозге у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и у здоровых доноров	73
3.7 Т-клетки памяти, экспрессирующие PD-1, у пациентов после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ	74
3.8 Развитие острой РТПХ у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от реконституции Т-клеток памяти	88
3.9 Развитие острой РТПХ в зависимости от доли PD-1 ⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК	94
3.10 Развитие рецидива у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от реконституции Т-клеток памяти	97
3.11 Развитие рецидива острого лейкоза у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от доли PD-1 ⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти	98
3.12 Восстановление субпопуляций Т-клеток клеток памяти у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК с классической профилактикой РТПХ в зависимости от источника трансплантата	102
Глава 4. Обсуждение	111
Заключение	120
Выводы	123
Практические рекомендации	125
Список сокращений	126
Список литературы	129
Приложение	163

Введение

Актуальность темы исследования

В основе двух главных иммунологических реакций после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и реакции «реакции трансплантат против опухоли» (РТПО), лежит адекватная реконституция иммунной системы, и в первую очередь, Т-клеточного звена. Известно, что противоопухолевый иммунный ответ реализуется преимущественно за счет феномена иммунологической памяти, носителем которой являются Т-лимфоциты памяти. Фундаментальные исследования показали, что при многих злокачественных заболеваниях, в том числе и при острых лейкозах, наблюдается истощение пула цитотоксических $CD8^+$ Т-клеток памяти (Т_{см}), что приводит к прогрессии заболевания [7]. Выполнение алло-ТГСК основано на переносе иммунной системы донора реципиенту, что позволяет восстановить нормальный адаптивный иммунный ответ. Однако основной проблемой больных после алло-ТГСК до сих пор остается развитие тяжелой РТПХ, что практически в половине случаев является причиной инвалидизации и смерти пациентов.

Основой профилактики развития острой РТПХ является лимфодеплеция, которая до настоящего времени базируется на применении антитимоцитарного глобулина (АТГ) в комбинации с другими иммуносупрессивными препаратами, такими как циклоспорин, метотрексат, микофенолата мофетил [158]. Однако данные многих исследований показали, что использование АТГ сопряжено с длительным восстановлением как Т-, так и В-клеточного звена иммунной системы после алло-ТГСК, что, в свою очередь, пролонгирует период иммунодефицита и приводит к частым инфекционным осложнениям [17, 18, 155].

За последнее десятилетие все большее распространение получило выполнение алло-ТГСК от частично-совместимых и родственных гаплоидентичных доноров. Первые попытки проведения таких трансплантаций были сделаны еще в 1990-х гг., однако главным лимитирующим фактором их широкого распространения стала 100% летальность по причине фатальной РТПХ [8]. Революционным в этом направлении стало использование посттрансплантационного циклофосфамида (ПТ-ЦФ) в режимах профилактики острой РТПХ [9, 10]. Еще в 1990-х гг. было показано, что иммуносупрессивное действие ПТ-ЦФ связано с его воздействием на зрелые Т-клетки, что, в результате, блокирует развитие РТПХ [11]. Однако дальнейшие исследования показали, что реализация аллоиммунного ответа после алло-ТГСК осуществляется преимущественно популяцией наивных Т-клеток [12].

Другим вариантом профилактики острой РТПХ при проведении алло-ТГСК от гаплоидентичных доноров стало предварительное удаление донорских $\alpha\beta$ -Т-клеток из

трансплантата, что существенно позволило уменьшить частоту острой РТПХ [13]. Исследования показали, что в таких случаях реконституция иммунной системы происходит за счет пролиферации $\gamma\delta$ -Т-клеток, которые, как предполагалось, реализовывали противоопухолевый иммунный ответ [14, 15]. Однако в дальнейшем оказалось, что общая и безрецидивная выживаемость взрослых больных в течение 2 лет после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с TCR $\alpha\beta$ -деплецией составляет всего лишь 28% и 31%, соответственно [16].

На сегодняшний день выбор режима профилактики острой РТПХ основывается преимущественно на клиническом опыте каждого трансплантационного центра. Однако наиболее важным является понимание механизмов, которые лежат в основе иммунологических реакций после алло-ТГСК, а также механизмов воздействия самой иммуносупрессивной терапии. Эта работа посвящена изучению реконституции Т-клеточного звена адаптивного иммунитета, который реализуется Т-клетками памяти, у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК.

Цель работы

Изучить реконституцию субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Задачи исследования

1. Определить количество клеток субпопуляций Т-клеток памяти – Т-наивных и стволовых клеток памяти (T_{nv+scm}), Т-клеток центральной памяти (T_{cm}), Т-клеток транзитной памяти (T_{tm}), Т-клеток эффекторной памяти (T_{em}) и Т-терминальных эффекторов (T_{te}), периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК

2. Проанализировать влияние различных иммуносупрессивных режимов на реконституцию и функциональные особенности субпопуляций Т-клеток памяти – T_{nv+scm}, T_{cm}, T_{tm}, T_{em}, T_{te}, периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК

3. Изучить влияние реконституции субпопуляций Т-клеток памяти – T_{nv+scm}, T_{cm}, T_{tm}, T_{em}, T_{te}, периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК на вероятность развития рецидива заболевания

4. Изучить влияние реконституции субпопуляций Т-клеток памяти – T_{nv+scm}, T_{cm}, T_{tm}, T_{em}, T_{te}, периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК на вероятность развития острой РТПХ

5. Определить количество Т-клеток различных субпопуляций – Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte, периферической крови и костного мозга, экспрессирующих PD-1, у пациентов с острыми лейкозами на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК

6. Оценить влияние PD-1⁺ Т-клеток субпопуляций Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови и костного мозга у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК на вероятность развития рецидива заболевания и РТПХ.

Научная новизна и практическая значимость работы

Впервые изучено влияние различных режимов профилактики РТПХ на восстановление отдельных субпопуляций Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга и их функциональных особенностей у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК.

В результате данного исследования были выявлены преимущества использования посттрансплантационного циклофосфида перед АТГ и получено иммунологическое обоснование сравнимой эффективности посттрансплантационного циклофосфида и TCRαβ-деплеции в качестве профилактики острой РТПХ у взрослых пациентов с острыми лейкозами, которым выполняют алло-ТГСК. Также были определены факторы, ассоциированные с высокой вероятностью развития острой РТПХ.

Результаты исследования учитывались в ходе разработки практических рекомендаций и протоколов выполнения алло-ТГСК в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту

1. Различные режимы профилактики острой РТПХ по-разному воздействуют на Т-клеточное звено иммунной системы в ранние сроки (+30, +60, +90 дни) после алло-ТГСК: использование альтернативных режимов профилактики острой РТПХ (посттрансплантационного циклофосфида в сочетании с АТГ или TCRαβ-деплеции) сопровождается более «агрессивным» воздействием на различные субпопуляции Т-клеток памяти в сравнении с классической иммуносупрессивной терапией с использованием АТГ.

2. Посттрансплантационный циклофосфамид и TCRαβ-деплегия имеют сравнимое влияние на пул Tnv+scm на ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60, +90 дни) и сравнимую вероятность острой РТПХ.

3. Большее количество Т-клеток памяти, экспрессирующих PD-1, у больных острыми лейкозами на ранних сроках после алло-ТГСК не является достоверным фактором, ассоциированным с развитием рецидива заболевания

Степень достоверности и апробация результатов

О достоверности полученных результатов исследования свидетельствует применение стандартных протоколов предтрансплантационного кондиционирования и иммуносупрессивной терапии, соответствующих российским и международным рекомендациям по трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Обоснованность и достоверность сделанных выводов подтверждены изучением научной литературы, использованием соответствующей методологии, умением анализировать и представлять данные, собранные в ходе проведения диссертационного исследования.

Основные положения диссертации представлены в виде устных и стендовых докладов, тезисов на конференциях, съездах и конгрессах: региональной конференции «Школа «Лейкозы и Лимфомы. Терапия и фундаментальные исследования. Актуальные вопросы диагностики и лечения гемобластозов» (Киров, 26 – 27 июня 2019 г), XI международном симпозиуме памяти Р. М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия» (Санкт-Петербург, 2017 г), XII международном симпозиуме памяти Р. М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия» (Санкт-Петербург, 2018 г), XIII международном симпозиуме памяти Р. М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия» (Санкт-Петербург, 19 – 21 сентября 2019 г), на III Конгрессе гематологов России (Москва, 2016 г), IV Конгрессе гематологов России (Москва, 2018 г), на 22-м конгрессе Европейского общества гематологов (Мадрид, 2017 г), 23-м конгрессе Европейского общества гематологов (Стокгольм, 2018 г), 24-м конгрессе Европейского общества гематологов (Амстердам, 2019 г), на 60-м съезде Американского общества гематологов (Сан-Диего, 2018), на 43-м ежегодном конгрессе Европейского общества по трансплантации костного мозга (Марсель, 2017 г), 44-м ежегодном конгрессе Европейского общества по трансплантации костного мозга (Лиссабон, 2018 г), 45-м ежегодном конгрессе Европейского общества по трансплантации костного мозга (Франкфурт, 2019 г).

Апробация диссертации состоялась на заседании проблемной комиссии «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России 17.02.2020 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 66 научных работ, из них 6 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура работы

Диссертационная работа включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список литературы» и «Приложение». Текст диссертации изложен на 165 страницах, содержит 46 рисунков и 24 таблицы. Список литературы включает 277 источников.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Реконституция иммунной системы после алло-ТГСК

В настоящее время трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является единственным методом, позволяющим достичь биологического излечения больных различными гемобластозами, аплазиями кроветворения, первичными иммунодефицитами, за счет переноса донорской не только кроветворной, но и иммунной системы реципиенту, что приводит к развитию иммунологических реакций, а именно реакции «трансплантат против опухоли» (РТПО) [19].

С неполной реконституцией, то есть неполным восстановлением иммунного ответа после алло-ТГСК, связано развитие различных осложнений, и, в первую очередь, тяжелых инфекционных осложнений как в раннем посттрансплантационном периоде (до +100 дня после алло-ТГСК), так и в более позднем [20]. Кроме того, неполноценная реконституция иммунной системы после алло-ТГСК сопряжена с развитием таких тяжелых осложнений, как реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и рецидив заболевания [21], терапия которых до сих пор является нерешенной проблемой.

Под реконституцией иммунной системы понимают своевременное восстановление клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, что позволяет обеспечить как адекватный противоинфекционный ответ, так и адекватный контроль за опухолью.

В настоящее время известно, что восстановление различных субпопуляций иммунных клеток происходит в различные сроки после алло-ТГСК (таблица 1).

Таблица 1. Период восстановления различных субпопуляций клеток иммунной системы после алло-ТГСК (Ogonek J. et al., 2016).

Субпопуляция клеток	Время от алло-ТГСК до восстановления нормального уровня
Натуральные киллеры (НК-клетки)	От 1 мес до 4 мес
CD4 ⁺ Т-хелперы	Более 24 мес
Т-регуляторные клетки (Treg)	От 6 нед до 6 мес

Цитотоксические CD8 ⁺ Т-клетки	От 1 мес до 18 мес
Т-наивные клетки	От 8 до 9 мес
Т-клетки памяти	До 24 мес
В-клетки (CD19 ⁺)	Более 24 мес

Первыми после алло-ТГСК восстанавливаются моноциты и гранулоциты [22]. Восстановление числа нейтрофилов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ при использовании стволовых клеток крови (СКК) в качестве источника трансплантата происходит в среднем к +14 дню после алло-ТГСК, при использовании костного мозга (КМ) в качестве источника трансплантата – к +21 дню, при использовании пуповинной крови в качестве источника трансплантата – к +30 дню [23]. Достаточно быстрое восстановление этих субпопуляций обеспечивает реконституцию первичного (врожденного) иммунного ответа, что наряду с адекватной противомикробной терапией позволяет успешно контролировать развивающиеся инфекционные осложнения (прежде всего, бактериальные и грибковые инфекции) в период полной аплазии кроветворения после проведенного предтрансплантационного кондиционирования [20, 22, 23].

Одной из наиболее быстро восстанавливающихся является популяция натуральных киллеров (NK-клеток). Восстановление этой популяции происходит в среднем в сроки от 1 до 4 месяцев после алло-ТГСК. Однако, даже восстанавливаясь до нормального количества в указанные сроки, NK-клетки функционально остаются незрелыми еще более чем 6 месяцев. Полноценное восстановление этой субпопуляции происходит лишь к году после алло-ТГСК [24].

В основе реконституции Т-клеточного звена на ранних сроках после алло-ТГСК лежит линейная экспансия зрелых донорских Т-клеток под воздействием провоспалительных цитокинов. Продукция наивных Т-клеток в тимусе наблюдается не ранее, чем после +100 дня после алло-ТГСК [25]. Субпопуляция CD4⁺ Т-клеток восстанавливается дольше (более 24 месяцев после алло-ТГСК), чем субпопуляция CD8⁺ Т-клеток (в среднем до 18 месяцев после алло-ТГСК), так как восстановление CD4⁺ Т-клеток в большей степени зависит от продукции наивных CD4⁺CD45RA⁺ Т-клеток в тимусе, в связи с чем в первые несколько месяцев после алло-ТГСК наблюдается феномен инверсии соотношения CD4⁺/CD8⁺ [23, 26].

Одна из клеточных субпопуляций, которая позволяет обеспечить баланс между РТПХ и РТПО – это субпопуляция CD4⁺ Т-регуляторных клеток (Tregs), которая подавляет активность

эффекторных и цитотоксических Т-клеток, участвующих в развитии РТПХ. Восстановление этой субпопуляции происходит в сроки от 6 недель до 6 месяцев после алло-ТГСК [27].

Популяция В-клеток, которая обеспечивает гуморальное звено иммунного ответа, восстанавливается в наиболее отдаленные сроки после алло-ТГСК. Первой восстанавливается субпопуляция $CD19^+CD21^{low}CD38^{high}$ транзиторных В-клеток и популяция функционально незрелых $CD5^+$ В-клеток. Восстановление же зрелых В-клеток происходит в отдаленном периоде, который занимает от 24 месяцев до 5 лет после алло-ТГСК [28].

Таким образом, неравномерность и «мозаичность» восстановления различных субпопуляций клеток иммунной системы, по-видимому, и определяет как различные временные рамки развития посттрансплантационных осложнений, так и характер самих осложнений.

1.2 Факторы, влияющие на реконституцию иммунной системы после алло-ТГСК

Время полного восстановления иммунной системы после алло-ТГСК может достаточно сильно различаться у пациентов, что обусловлено многими факторами. В литературе обсуждаются такие факторы, как клеточный состав самого трансплантата (количество $CD34^+$, $CD3^+$ в трансплантате), источник трансплантата, совместимость пары донор/реципиент, CMV-статус донора и реципиента, режим предтрансплантационного кондиционирования, режим профилактики острой РТПХ [29–31].

1.2.1 Влияние источника трансплантата и клеточного состава трансплантата на восстановление иммунной системы после алло-ТГСК

В ряде работ было показано влияние источника трансплантата и его клеточного состава на скорость приживления трансплантата – восстановление абсолютного количества гранулоцитов $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ в периферической крови, которое подтверждается минимум тремя последовательными исследованиями, и тромбоцитов $> 20 \times 10^9/\text{л}$ по результатам как минимум двух последовательных анализов периферической крови без трансфузий тромбоконцентрата [20]. К настоящему времени доказано, что использование в качестве источника трансплантата СКК существенно ускоряет восстановление субпопуляций как Т-, так и В-клеток, а именно $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD19^+$, в сравнении с использованием в качестве источника трансплантата КМ и пуповинной крови [20, 23, 31, 32]. Это позволяет минимизировать вероятность развития тяжелых оппортунистических инфекций, как одной из причин ранней летальности пациентов после алло-ТГСК.

Кроме того, в ряде исследований была показана значимость клеточности трансплантата, то есть количества переливаемых донорских гемопоэтических стволовых клеток реципиенту. М. Pulsipher с коллегами в своей работе показали, что у реципиентов СКК, которым была выполнена трансфузия не менее $4,5 \times 10^6/\text{кг CD34}^+$, регистрировали более быстрое приживление, меньшее число инфекционных осложнений и лучшие результаты 3-летней общей выживаемости в сравнении с реципиентами СКК, у которых трансплантат содержал меньшее количество $CD34^+$. Кроме того, использование трансплантата с большей клеточностью (не менее $4,5 \times 10^6/\text{кг CD34}^+$) никак не коррелировало с большей частотой развития как острой, так и хронической РТПХ [33]. Другие исследования также показали, что использование трансплантата с низкой клеточностью (менее $4,0 \times 10^6/\text{кг CD34}^+$) у реципиентов аллогенных СКК после предтрансплантационного кондиционирования в режиме пониженной интенсивности (RIC) было связано с достоверно худшими показателями общей выживаемости и более высокой летальностью этих пациентов [34]. Кроме того, было показано, что «экстремально» низкая клеточность трансплантата (менее $2,5 \times 10^6/\text{кг CD34}^+$), как и «экстремально» высокая (более $11 \times 10^6/\text{кг CD34}^+$) увеличивает риск развития рецидива заболевания [35].

В целом за последние двадцать лет частота использования КМ в качестве источника трансплантата существенно снизилась. Так, согласно данным EBMT (Европейская организация по трансплантации костного мозга и стволовых клеток), более чем в 70% случаев в качестве источника трансплантата у взрослых больных гемобластозами выбирают именно СКК [36]. Что касается использования КМ, то многие исследователи говорят о более медленном приживлении и длительной реконституции иммунной системы, что сопряжено, в первую очередь, с инфекционными осложнениями, и более низкими показателями общей выживаемости в сравнении с использованием СКК [20, 32–35]. Кроме того, более низкая клеточность трансплантата в случае использования КМ (за счет более низкого содержания общего количества ядродержащих клеток (TNC)) само по себе сопряжено с более высоким риском первичного неприживления трансплантата [37]. Так, в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава РФ в исследовании 2018 г. было показано, что вероятность развития первичного неприживления трансплантата в первые 6 месяцев после алло-ТГСК от неродственного донора у больных острыми лейкозами ($n = 132$) значимо выше в случае использования КМ в качестве источника трансплантата в сравнении с реципиентами СКК ($p = 0,001$). При этом применение КМ было значимо чаще ассоциировано с пониженной клеточностью трансплантата ($p = 0,001$). Вероятность отторжения трансплантата в течение первых 6 месяцев после алло-ТГСК у реципиентов КМ составила 19,1%, у реципиентов СКК – 2,7% ($p = 0,0026$) [1].

В настоящее время пуповинная кровь как источник трансплантата у взрослых больных практически не используется в виду высокого риска первичного неприживания или отторжения трансплантата. Так, японские исследователи показали, что из 180 пациентов, у которых в качестве источника трансплантата использовалась пуповинная кровь, лишь у трети (39%) было констатировано приживание трансплантата в среднем на +30 день после алло-ТГСК [38].

Много исследований посвящено вероятности развития РТПХ в зависимости от источника трансплантата. Было показано, что, несмотря на более быстрое приживание при использовании СКК в качестве источника трансплантата, общая выживаемость в этой группе больных ненамного отличается от реципиентов КМ. Это связано с более частым развитием хронической РТПХ при использовании СКК в качестве источника трансплантата. При этом частота острой РТПХ обычно не различается в этих группах [39–42]. J. Levine и соавторы в своей работе показали, что частота развития хронической РТПХ к году после алло-ТГСК после использования СКК в качестве источника трансплантата достигает 75%, что, в свою очередь, снижает качество жизни пациентов, а также влияет на показатели общей выживаемости [40].

Есть исследования, которые показывают отсутствие значимых различий в развитии острой РТПХ, а также рецидивов заболевания при использовании СКК или КМ [43–46]. В исследовании A. Ruggeri было показано, что у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с использованием посттрансплантационного циклофосфида (ПТ-ЦФ) в качестве индуктора толерантности частота острой РТПХ после использования СКК или КМ в качестве источника трансплантата значимо не отличалась (38% и 21% соответственно, $p = 0,1$). Частота рецидивов заболевания также не отличалась в группах с использованием СКК и КМ. Безрецидивная выживаемость составила 54% и 49%, соответственно [43].

1.2.2 Варианты алло-ТГСК и выбор донора

Хорошо известно, что в основе совместимости между донором и реципиентом лежит совместимость по системе HLA (человеческие лейкоцитарные антигены или система тканевой совместимости человека), открытие которой принадлежит французскому гематологу J. Dausset в 1958 г., который впоследствии стал лауреатом Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1980 г. [47]. Система HLA включает в себя около 200 генов, расположенных на коротком плече 6 хромосомы, которые представлены 3 классами антигенов: I класс – HLA-A, -B, -C, которые экспрессируются на поверхности всех ядродержащих клеток; II класс – HLA-

DR, -DQ, -DP, представлены на поверхности В-клеток, макрофагов, дендритных клеток, тубулярных эпителиальных клеток почек; III класс включает в себя систему комплемента. В целом система HLA очень полиморфна. Например, HLA-A включает в себя более чем 25 различных аллелей генов, HLA-B – 60 различных аллелей, HLA-DR – 18 различных аллелей. HLA-A, -B, -DR вместе составляют один гаплотип, который наследуется от родителя [48].

Функция молекул HLA заключается в представлении (презентировании) антигена цитотоксическим Т-клеткам. Считалось, что в основе иммунологической несовместимости пары донор/реципиент лежит присутствие донор-специфичных цитотоксических аллореактивных антител (алло-АТ) у реципиента. Развитие иммунологических реакций с участием «избыточного» количества алло-АТ при выполнении таких алло-ТГСК в одних случаях приведет к отторжению трансплантата, в других – к РТПХ [49]. В связи с этим, первые алло-ТГСК выполнялись от родственных полностью совместимых по HLA доноров, как правило, от родного брата или сестры. В 1968 г. в работе R. Gatti впервые сообщалось об успешной алло-ТГСК, которая была выполнена 5-месячному ребенку с тяжелым комбинированным иммунодефицитом. Алло-ТГСК была выполнена от HLA-идентичного родственного донора с использованием КМ в качестве источника трансплантата. Учитывая тот факт, что заболевание носило незлокачественный характер, больному не проводили предтрансплантационное кондиционирование, а полная совместимость по HLA, в то время, не предполагала проведения иммуносупрессивной терапии [50]. Первое успешное выполнение алло-ТГСК от родственных HLA-полностью совместимых доноров у 7 больных острыми лейкозами описано в 1971 г. в работе E.D. Thomas, что дало возможность впервые рассматривать пациентов с гемобластозами как «потенциально курабельных» [51].

Однако возможность использования HLA-идентичных сиблингов для проведения алло-ТГСК ограничена. Так, не более 30% от всех больных острыми лейкозами имеют HLA-совместимых родственных доноров, что заставило развивать систему поиска неродственных доноров [48]. Это, в свою очередь, привело к совершенствованию методов типирования пары донор/реципиент по HLA и формированию донорских регистров [53].

Алло-ТГСК от неродственных доноров как полностью совместимых, так и частично-совместимых и алло-ТГСК от родственных доноров показывают сравнимые результаты выживаемости больных. Так, в исследовании 2013 г. были продемонстрированы результаты 5-летней общей выживаемости больных острыми лейкозами: после алло-ТГСК от родственного донора общая выживаемость составила 56%, после алло-ТГСК от полностью совместимого неродственного донора – 68%, после алло-ТГСК от частично-совместимого неродственного донора – 71% ($p = 0,8$) [2]. Другое исследование 2016 г., включившее молодых больных

апластической анемией, также показало отсутствие значимых отличий в группах пациентов, которым была выполнена алло-ТГСК от родственного полностью совместимого донора и от неродственного полностью совместимого донора: 5-летняя общая выживаемость составила 89% и 84%, соответственно ($p = 0,8$) [54]. Н. Sakaguchi и соавторы в своей работе показали сравнимые результаты выживаемости больных острыми лейкозами: у пациентов после алло-ТГСК от родственного полностью совместимого донора общая 3-летняя выживаемость составила 74,8%, безрецидивная выживаемость – 69,6%, у больных после алло-ТГСК от неродственных полностью совместимых доноров – 69% и 71,8%, соответственно, после алло-ТГСК от частично-совместимых (9/10 или 8/10) доноров – 75% и 63,8%, соответственно [55]. Несмотря на приемлемые результаты выживаемости, выполнение алло-ТГСК от неродственных доноров также ограничено рядом факторов: этническим разнообразием и генетической гетерогенностью пациентов и потенциальных доноров, необходимостью быстрого выполнения алло-ТГСК в ряде случаев, высокой стоимостью самого поиска и подбора донора [53]. В связи с этим, в настоящее время в широкую практику входит алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора. Исследование Piemontese показывает, что общая 3-летняя выживаемость больных острыми лейкозами после выполнения алло-ТГСК от неродственного частично совместимого донора (9/10) составляет 48% против 46% в случае алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора [56]. Кроме того, риск развития острой РТПХ в случае алло-ТГСК от гаплоидентичных доноров по данным литературы составляет 21–32%, в то время как вероятность острой РТПХ после алло-ТГСК от неродственного донора (10/10, 9/10) – 30–44%, а после алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора – 21–30% [57–59], что объясняется использованием более массивной профилактики острой РТПХ при алло-ТГСК от гаплоидентичного донора.

Исследования по оценке реконституции отдельных клеточных субпопуляций у больных после алло-ТГСК от родственных, неродственных или гаплоидентичных доноров не показывают каких-либо значимых различий. Выбор донора (родственный/неродственный, совместимый полностью/частично) как единственный фактор достоверно не влияет на реконституцию субпопуляций иммунных клеток [20, 23, 30, 60].

1.2.3 CMV статус пары донор/реципиент

В течение первого года после алло-ТГСК реципиенты аллогенных гемопоэтических стволовых клеток подвержены высокому риску развития вирусных инфекций, в первую очередь, цитомегаловирусной инфекции (CMV), ввиду длительного глубокого

иммунодефицита. Частота реактивации CMV достигает 40-60% в течение первого года после алло-ТГСК и 10% после первого года, несмотря на проводимую противовирусную профилактику [61, 62]. Известно, что CMV-специфичный иммунный ответ обеспечивается за счет феномена «иммунологической памяти». Предтрансплантационное кондиционирование, РТПХ, проведение иммуносупрессивной терапии приводят к истощению CMV-специфичного Т-клеточного пула и развитию тяжелых генерализованных вирусных инфекций [63]. Наименьшему риску CMV-инфекции подвержены серонегативные по CMV (CMV/IgG⁻) реципиенты, которым выполняется алло-ТГСК от серонегативных CMV/IgG⁻ доноров [64]. Если же алло-ТГСК выполняется серопозитивным по CMV (CMV/IgG⁺) реципиентам от серопозитивных CMV/IgG⁺ доноров, то реактивация CMV наблюдается в 42% случаев, если от серонегативных CMV/IgG⁻ доноров – в 56% [61, 65, 66]. Исследования показали, что лучшая реконституция CMV-специфичного Т-клеточного ответа и, соответственно, значимо меньшая частота вирусных инфекций после алло-ТГСК происходит в случае алло-ТГСК от серопозитивных CMV/IgG⁺, чем от серонегативных CMV/IgG⁻ доноров [67–71].

1.2.4 Режимы предтрансплантационного кондиционирования

В 1957 г. впервые опубликована работа D. Barnes и соавторов, в которой сообщалось об успешном лечении лейкемии у мышей с помощью сублетальных доз облучения с последующей трансфузией аллогенного костного мозга от здорового донора [72]. Данная работа положила начало использованию этого метода в лечении лейкемии у людей. Так, одна из первых работ была опубликована в 1969 г. С. Buekner и соавторами, где сообщалось об успешной алло-ТГСК от родственного донора (сестры) мужчине 46 лет с бластным кризом хронического миелолейкоза после кондиционирования с использованием тотального облучения тела (TOT) в дозе 950 рад [73].

В целом использование тотального облучения тела с целью эрадикации опухолевой массы и последующем замещением кроветворных ниш аллогенными гемопоэтическими клетками показало, что, с одной стороны, больные лейкемией, особенно те, у которых было резистентное к ранее проводимой химиотерапии заболевание, могут быть излечены, а с другой, – что этот метод сопряжен с развитием летальных осложнений, в первую очередь, связанных с высокой токсичностью TOT, а также развитием неконтролируемой аллоиммунной реакции [51, 74, 75].

В 1983 г. G. Santos и P. Tutschka сообщили об использовании высоких доз бусульфана (16 мг/кг внутрь) в сочетании с циклофосфамидом (120 мг/кг) в качестве

предтрансплантационного кондиционирования [76]. В дальнейшем на протяжении нескольких десятилетий, вплоть до сегодняшнего времени, этот режим является классическим миелоаблативным режимом кондиционирования (МАС) перед алло-ТГСК. Многочисленные исследования доказали его высокую эффективность, а также меньшую токсичность по сравнению с ТОТ [77–80]. Однако, несмотря на его высокую эффективность, было показано, что летальность после такого кондиционирования достигает 48% в течение первого года после алло-ТГСК [81], что было связано в половине случаев с развитием фатальной вено-окклюзионной болезни (ВОБ) [82]. Использование внутривенных форм бусульфана позволяет снизить частоту ВОБ до 5% по сравнению с применением бусульфана внутрь, когда частота ВОБ составляет 20–30% [83]. Однако использование внутривенных форм бусульфана ассоциировано с большей частотой рецидивов заболевания (около 30% в течение первого года после алло-ТГСК), но достоверно меньшей частотой хронической РТПХ ($p = 0,03$) в сравнении с классическим МАС или режимом с ТОТ, что связано, по всей видимости, с меньшей миелоаблацией в случае использования внутривенных форм бусульфана [84].

Использование миелоаблативных режимов, в том числе и ТОТ, вызывает необратимое повреждение тимуса, что, в свою очередь, ведет к невозможности пролиферации *de novo* наивных Т-клеток и глубокому иммунодефициту [85–88]. Восстановление Т-клеточного звена как в случае ТОТ, так и в случае использования высоких доз бусульфана происходит за счет пролиферации зрелых Т-клеток, которые были трансплантированы реципиенту от донора. Предполагается, что экспансия донорских Т-клеток приведет к реализации иммунологической реакции «трансплантат против лейкоза». Однако этот механизм – «перенос донорских зрелых Т-клеток от донора реципиенту» – приводит к избыточной аллореактивности и развитию тяжелой острой РТПХ в 40–50% случаев [89, 90]. В тех случаях, когда не наблюдается развития РТПХ, восстановление субпопуляции CD8⁺ Т-клеток занимает не менее 6 месяцев после алло-ТГСК, а уровень CD4⁺ Т-клеток остается крайне низким даже к году после алло-ТГСК [91].

Таким образом, высокая летальность после миелоаблативных режимов, ассоциированная с высокой токсичностью самого кондиционирования, высокой частотой острой РТПХ, отсроченной реконституцией иммунной системы и, соответственно, высоким риском развития тяжелых инфекционных осложнений после алло-ТГСК, привела к созданию альтернативных режимов предтрансплантационного кондиционирования.

Использование режимов пониженной интенсивности (RIC) основано на эффекте иммуноаблации, то есть, в первую очередь, воздействии на лимфоидную ткань реципиента, что впоследствии создает условия для развития реакции «трансплантата против опухоли» [92, 93]. Обычно в протоколах этого кондиционирования используют аналоги пуринов, например,

флударабин, в сочетании с алкилирующими агентами – бусульфан в дозе 8 мг/кг, мелфалан в дозе 140 мг/м², использование которых в меньшей степени приводит к миелосупрессии [94]. Как правило, в режимах пониженной интенсивности с целью Т-клеточной деплеции используют и иммуносупрессивные препараты, такие как антитимоцитарный глобулин (АТГ) [95]. Результаты показывают, что частота развития тяжелой формы острой РТПХ при использовании режимов пониженной интенсивности достоверно ниже, чем при использовании миелоаблативного кондиционирования – 16,9% против 44,4%, соответственно ($p = 0,017$) [96]. Другие исследователи сообщают о 19–34% случаев развития острой РТПХ тяжелой степени и 45–57% хронической РТПХ [97–99]. Вероятность рецидивов заболевания после алло-ТГСК в режиме пониженной интенсивности и миелоаблативном режиме достоверно не отличается, что составляет 42,9% и 36,3%, соответственно ($p = 0,75$) [96]. Безрецидивная выживаемость больных острыми лейкозами после алло-ТГСК во второй ремиссии заболевания после режима пониженной интенсивности составляет 50,8%, а после миелоаблативного режима – 54,9% [100].

Исследования показывают, что время восстановления Т-клеточного звена иммунной системы у больных после алло-ТГСК в режиме пониженной интенсивности достоверно не отличается от тех пациентов, которым проводили алло-ТГСК в миелоаблативном режиме [96, 101]. Однако ряд работ демонстрирует, что использование режимов пониженной интенсивности приводит к более быстрому восстановлению CD4⁺ Т-клеток и нормализации соотношения CD4⁺/CD8⁺ уже к году после алло-ТГСК в сравнении с пациентами, у которых использовали миелоаблативное кондиционирование. Быстрое восстановление, в частности субпопуляции CD4⁺ Т-клеток, связано с выявлением уже на сроках +3, +6 и +12 месяцев после алло-ТГСК наивных CD3⁺ Т-клеток – недавних эмигрантов из тимуса (TREC). При этом TREC практически не выявлялись у больных после миелоаблативного кондиционирования [92, 102, 103].

Восстановление В-клеточного звена по данным различных исследований не отличается у пациентов после алло-ТГСК в режиме пониженной интенсивности и миелоаблативном режиме [101, 104, 105].

1.2.5 Режимы профилактики острой РТПХ

РТПХ является одним из основных посттрансплантационных осложнений как в раннем (до +100 дня), так и в позднем посттрансплантационном периоде, и в 50–70% случаев является причиной смерти пациентов после алло-ТГСК [106, 107]. Впервые РТПХ была описана Billingham в 1966 г. как иммунологический синдром, когда Т-клетки донора распознают и

повреждают различные органы и ткани реципиента – желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), кожу, слизистые, печень и легкие [108].

По данным различных исследований частота развития острой РТПХ достигает до 40% при алло-ТГСК от родственного полностью совместимого донора и до 50% при алло-ТГСК от неродственного донора, при этом около 10% приходится на стероид-резистентную форму острой РТПХ. Факторами риска развития острой РТПХ являются: несовместимость по HLA, старший возраст пациентов, степень аллоиммунизации доноров, донор женщина – реципиент мужчина, реактивация CMV, использование ТОТ в режимах кондиционирования [109–115]. Частота развития хронической РТПХ достигает 30–70% и ассоциирована с такими факторами, как предшествующая острая РТПХ, донор женщина – реципиент мужчина, старшая возрастная группа пациентов, использование Г-КСФ в период аплазии кроветворения после проведенного кондиционирования, алло-ТГСК от неродственных или частично совместимых доноров [109, 110, 116–118].

До сих пор не существует унифицированного подхода как в профилактике, так и в лечении РТПХ. Наиболее часто в качестве профилактики острой РТПХ используют различные сочетания таких препаратов, как циклоспорин А, такролимус, сиролимус, метотрексат, микофенолата мофетил, АТГ, алемтузумаб, циклофосфамид. Пожалуй, единственным унифицированным подходом является стартовая терапия острой РТПХ преднизолоном/метилпреднизолоном в дозе 2 мг/кг/сут [119, 120]. Однако при констатировании стероид-резистентной формы РТПХ следующие линии терапии различаются в различных трансплантационных центрах. Кроме иммуносупрессивных препаратов, при проведении алло-ТГСК от гаплоидентичных доноров используют такие подходы профилактики острой РТПХ, как Т-альфа/бета-деплеция, CD19-деплеция, трансфузии селектированных CD34⁺ клеток в мега дозах [3, 13, 121]. В терапии хронической РТПХ широкое распространение получил экстракорпоральный фотоферез (ЭКФ) [4, 122].

Наиболее распространенной схемой профилактики РТПХ является использование ингибитора кальциневрина – циклоспорина А (CsA) в сочетании с метотрексатом (MTX) в малых дозах [123]. Исследования показали более высокую эффективность при использовании именно сочетания CsA + MTX в сравнении с использованием CsA в монорежиме [124] – острая РТПХ II–IV степени развивалась в 33% и 54% случаев, соответственно ($p = 0,014$) [125]. Результаты по использованию другого ингибитора кальциневрина – такролимуса в сочетании с MTX достоверно не отличаются от схемы CsA + MTX – 13% и 17% случаев острой РТПХ III–IV степени, соответственно [126].

Однако использование МТХ ассоциировано с более тяжелыми проявлениями мукозита, более длительным приживлением, почечной и печеночной токсичностью в сравнении с применением CsA или такролимуса в монорежиме [127]. Альтернативным решением стало использование сиролимуса (рапамицина) в сочетании с CsA или такролимусом. Исследования показали сопоставимые результаты схем CsA/такролимус + сиролимус и CsA/такролимус + МТХ [128, 129]. Однако в дальнейшем при использовании сиролимуса была выявлена корреляция с развитием следующих осложнений: гиперлипидемия, тяжелые пневмонии, тромботическая микроангиопатия, что, в свою очередь, ограничило его применение в схемах иммуносупрессивной терапии при алло-ТГСК [130–132].

Использование микофенолата мофетила (ММФ) показало большую эффективность профилактики острой РТПХ за счет выявленного синергизма с CsA и сравнительно меньшую токсичность в сравнении с МТХ [133, 134]. Режим CsA + ММФ + МТХ в настоящее время используется преимущественно при немиелоаблативных режимах кондиционирования и режимах пониженной интенсивности [135, 136].

Широкое распространение алло-ТГСК от неродственных и частично совместимых доноров привело к необходимости использовать «более мощную иммуносупрессию» уже на этапе профилактики РТПХ. С конца 90-х – начало 2000 гг. использование АТГ в составе режима пониженной интенсивности при алло-ТГСК от неродственных доноров у пациентов с острыми лейкозами, миелодиспластическим синдромом и хроническим миелолейкозом показало лучшие результаты в сравнении со стандартной схемой CsA + МТХ [137, 138] – частота острой РТПХ снизилась до 15%, рецидивы в течение первого года после алло-ТГСК не наблюдались [139]. Другие работы, в которых больным острым миелоидным лейкозом или хроническим миелолейкозом выполняли алло-ТГСК от неродственных полностью совместимых доноров, демонстрируют сравнимые результаты с и без использования АТГ [140, 141]. Однако А. Васигалуро с соавторами показали, что использование АТГ в составе режима пониженной интенсивности вместе с профилактикой CsA + МТХ приводит к лучшим результатам в сравнении с использованием CsA + МТХ без АТГ при алло-ТГСК от неродственных частично совместимых доноров – смертность от острой РТПХ в группе больных без АТГ составила 36% против 11% в группе с АТГ [17].

Использование алемтузумаба (моноклональное антитело к CD52) является альтернативой применению АТГ для профилактики острой РТПХ. Широкое применение этот препарат нашел в терапии аутоиммунных заболеваний и органной трансплантации [142, 143]. Исследования показывают, что использование алемтузумаба при алло-ТГСК, с одной стороны, приводит к значимо меньшей частоте острой РТПХ (не более 5%), однако при этом

наблюдается более высокая вероятность рецидивов заболевания после алло-ТГСК (более 30%), высокая частота смешанного химеризма (в половине случаев) и неприжизнения/отторжения трансплантата (до 40%), в виду чего его применение при алло-ТГСК ограничено [144–147].

В течение последних нескольких лет значительно чаще стали выполнять алло-ТГСК от частично совместимых доноров (несовместимость по 2 и более локусам), а также от родственных гаплоидентичных доноров. В схемах профилактики РТПХ при этих видах алло-ТГСК в настоящее время широко используют циклофосфамид (ПТ-ЦФ) в дозе 50 мг/кг/сут на +3, +4 день после трансплантации. Включение ПТ-ЦФ в режим профилактики впервые позволило в 90–95% случаев избежать первичного неприжизнения трансплантата при несовместимых и, особенно, гаплоидентичных алло-ТГСК, что до этого, наряду с неконтролируемой фатальной РТПХ, являлось главным фактором, ограничивающим использование частично совместимых и гаплоидентичных доноров. Уже первые исследования по использованию ПТ-ЦФ в сочетании с другими иммуносупрессивными агентами (CsA, такролимусом, МТХ) показали, что частота острой РТПХ варьирует от 34 до 46% в случае однократного введения ПТ-ЦФ в дозе 50 мг/кг, а общая выживаемость составляет 35–56% при гаплоидентичных алло-ТГСК [9, 148, 149]. Двукратное введение ПТ-ЦФ в дозе 50 мг/кг/сут на +3, +4 день позволило улучшить результаты: частота острой РТПХ снизилась до 20%, а 2-летняя общая выживаемость составила 70% [150, 151]. Дальнейшие исследования с использованием ПТ-ЦФ в монорежиме у больных острым миелоидным лейкозом после алло-ТГСК от гаплоидентичных доноров в режиме пониженной интенсивности показали крайне низкую частоту острой РТПХ (по данным L. Luznik – не более 5%, по данным A. Munchel – до 27%). Кроме того, первичное неприжизнение трансплантата зафиксировано лишь в 13% случаев, развитие хронической РТПХ после года алло-ТГСК не превышало 5%, 2-летняя общая выживаемость составила около 40% [9, 152]. Эффективность моно-ПТ-ЦФ была показана и при алло-ТГСК от полностью совместимых доноров после проведения миелоаблативного кондиционирования – частота острой РТПХ не превышала 15%, а 2-летняя безрецидивная выживаемость и общая выживаемость составили 62% и 67%, соответственно [153, 154].

Много исследований посвящено изучению реконституции иммунной системы при использовании различных схем профилактики острой РТПХ как одного из факторов эффективности того или иного режима иммуносупрессивной терапии, особенно при частично совместимых и гаплоидентичных алло-ТГСК. Известно, что использование АТГ значительно удлиняет время восстановления практически всех субпопуляций иммунокомпетентных клеток в сравнении с классическим режимом профилактики (CsA, МТХ, ММФ). Так, было показано, что на +28 день алло-ТГСК после использования АТГ уровень НК-клеток, моноцитов,

базофилов, миелоидных дендритных клеток значимо ниже, чем после режима профилактики острой РТПХ без АТГ; восстановление В-клеток происходит не ранее +180 дня алло-ТГСК, а восстановление Т-клеток происходит значительно дольше – содержание как $CD4^+$, так $CD8^+$ на +730 день алло-ТГСК все еще не достигает нормальных значений [155].

При сравнении режимов с АТГ и с ПТ-ЦФ было показано, что после использования ПТ-ЦФ в течение первого месяца после алло-ТГСК содержание α/β -Т-клеток, Tregs (Т-регуляторных клеток) и $CD4^+$ Т-клеток значимо выше, чем после АТГ; на +30 день после использования ПТ-ЦФ абсолютное количество НК-клеток и моноцитов значимо больше, чем после АТГ; на +60 день после использования ПТ-ЦФ содержание α/β -, γ/δ Т-клеток, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, НК-клеток и моноцитов значимо выше, чем после АТГ [156].

Такие результаты можно объяснить различиями в механизмах действия описываемых препаратов. АТГ представляет собой поликлональное антитело (АТ), полученное из гипериммунной сыворотки лошадей (тимоглобулин – из кроличьей сыворотки), иммунизированных Т-лимфоцитами (в частности, тимоцитами) человека. Как правило, эта сыворотка содержит широкий спектр АТ, которые связываясь со своими эпитопами на Т-клетках, обеспечивают массивную Т-клеточную деплецию как в крови, так и в лимфоидных тканях. Именно за счет своей поликлональности АТГ «убирает» весь лимфоидный компартмент, при этом также воздействуя на тимус, что проявляется в длительной реконституции как Т-, так и В-клеток в течение 2х и более лет после алло-ТГСК [157, 158]. Механизм действия ПТ-ЦФ связан с его способностью вызывать апоптоз именно аллореактивных цитотоксических Т-клеток. При этом, важно отметить, что ПТ-ЦФ практически не оказывает влияния на клетки памяти, преимущественно клетки центральной памяти, а также на стволовые клетки памяти, которые, как описывает N. Cieri в своей работе, являются «потомками» наивных Т-клеток. Это, в свою очередь, говорит о меньшем воздействии ПТ-ЦФ на тимус, что приводит к более быстрой реконституции иммунной системы [159, 160].

Что касается влияния самой РТПХ на реконституцию иммунной системы после алло-ТГСК, то развитие РТПХ и терапия глюкокортикостероидами (особенно длительная) значительно удлиняет реконституцию В-клеток, $CD4^+$, $CD8^+$ Т-клеток, что, в свою очередь, приводит к тяжелым инфекционным осложнениям [161].

1.3 Реконституция Т-клеточного звена иммунной системы. Роль тимуса

Т-клеточное звено иммунной системы обеспечивает защиту от инфекционных агентов, в том числе от оппортунистических инфекций, а также противоопухолевый контроль.

Своевременное восстановление тех или иных субпопуляций иммунокомпетентных клеток после алло-ТГСК является главным фактором «успеха» этого вида терапии, позволяющим увеличить длительность безрецидивной выживаемости у пациентов после алло-ТГСК.

Звено первичного иммунного ответа, куда входят субпопуляции гранулоцитов, моноцитов и НК-клеток, восстанавливается в среднем в течение 2–4 недель после алло-ТГСК. Реконституция адаптивного звена иммунной системы занимает несколько лет после алло-ТГСК, а сроки восстановления отдельных субпопуляций могут достаточно сильно различаться.

Процесс восстановления Т-клеточного звена можно условно разделить на 2 самостоятельных пути: тимус-зависимый и тимус-независимый. Сначала восстановление лимфоцитов после проведенного кондиционирования в первый месяц после алло-ТГСК осуществляется за счет тимус-независимого пути: 1) за счет экспансии ранее существовавших наивных Т-клеток и Т-клеток памяти, которые «выжили» после проведенного кондиционирования, 2) за счет зрелых донорских Т-клеток, которые были в составе самого трансплантата [162]. На экспансию как «собственных», так и «донорских» клеток влияют различные факторы, связанные с алло-ТГСК. По данным литературы, миелоаблативное кондиционирование и трансфузии лимфоцитов донора преимущественно оказывают влияние на экспансию «донорских» клеток, а режим пониженной интенсивности – на репертуар Т-клеточного рецептора (ТКР) «собственных» клеток. Иммуносупрессивная терапия влияет на экспансию обоих компартментов [163, 164].

Экспансия, т.е. увеличение субпопуляции Т-клеток, происходит в результате взаимодействия Т-клетки с антигеном (АГ) или в ответ на лимфопению [165]. В исследованиях на мышах было показано, что если наивные Т-клетки донора пересадить реципиенту с лимфопенией, то наивные Т-клетки начнут пролиферировать в отсутствие стимуляции АГ [166]. Этот феномен называется «гомеостатической пролиферацией». В дальнейшем было показано, что такая пролиферация не заменяет периферический пул наивных Т-клеток у реципиента на донорский, так как в случае пролиферации в условиях лимфопении наивные Т-клетки донора трансформируются в клетки, подобные клеткам памяти (memory-like), при этом утрачивая фенотип наивных Т-клеток. Таким образом, под явлением гомеостатической пролиферации понимают пролиферацию Т-клеток в ответ на лимфопению [167]. Исследования показали, что такая пролиферация наивных Т-клеток не изменяет репертуар ТКР, так как «исходным материалом» являются донорские, уже зрелые Т-клетки, которые были трансплантированы реципиенту. В связи с этим восстановление периферического пула Т-клеток ограничено за счет ограниченного разнообразия ТКР [162, 168].

В целом, тимус-независимый путь реконституции Т-клеток, как через АГ-стимуляцию, так и через гомеостатическую пролиферацию, обеспечивает первоначальное развитие иммунного ответа против инфекционных агентов после алло-ТГСК. В виду того, что при таком пути реконституции не происходит образования Т-клеток *de novo*, а существование «донорского» Т-компартамента происходит в раннем посттрансплантационном периоде и ограничено по времени, то в результате иммунный ответ носит преходящий характер и также ограничен определенным временным промежутком. Соответственно, для формирования адекватного адаптивного иммунного ответа необходимо полное восстановление периферического пула наивных Т-клеток *de novo* [162].

Тимус-зависимый путь обеспечивает разнообразие ТКР, что является необходимым условием для восстановления и поддержания периферического Т-клеточного пула. Известно, что источником всех кроветворных клеток является костный мозг. Вновь образованные Т-клетки в костном мозге для дальнейшего созревания и пролиферации с током крови переносятся в лимфоидные органы, а именно, в тимус. Так как это клетки, которые еще не сталкивались с АГ, они являются абсолютно незрелыми и не несут на своей поверхности никакого определяющего рецептора – $CD3^+CD4^-CD8^-$ (Triple negative, «трижды негативные клетки»). Эти клетки занимают кортикальный слой тимуса и активно делятся и пролиферируют под действием цитокинов (интерлейкин 7, стволовой фактор роста и др.), которые синтезируются кортикальными эпителиальными клетками [169]. В результате такой пролиферации «трижды негативные» клетки приобретают рецепторы $CD4^+$, $CD8^+$ (Double positive, «дважды положительные клетки») [170]. Образование «double positive»-Т-клеток свидетельствует о наличии на их поверхности ТКР- $\alpha\beta$. ТКР состоит из 4 цепей: α -, β -, γ -, δ -. В данном случае ТКР имеет в своем составе только α -, β -цепи, что свидетельствует о «зрелости» Т-клеток, и сам процесс носит название «позитивной тимической селекции» [162]. В дальнейшем «double positive»-Т-клетки мигрируют в мозговой слой тимуса, где взаимодействуют с АГ эпителиальных тимических клеток, в состав которых входят молекулы МНС II и I классов. В результате такого взаимодействия «double positive»-Т-клетки утрачивают один из рецепторов и превращаются или в $CD4^+$, или в $CD8^+$ Т-клетки в зависимости от способности связываться с молекулами МНС ($CD8^+$ связываются с молекулами МНС I класса, $CD4^+$ – с МНС II класса). Этот феномен носит название «негативной тимической селекции» и является ключевым механизмом формирования иммунологической толерантности, то есть невосприимчивости к собственным тканям [171]. В результате, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки с периферической кровью разносятся по органам и тканям организма и называются Т-клетками – недавними эмигрантами из тимуса (RTE). С одной стороны, их можно считать условно

«зрелыми» клетками, так как они несут на своей поверхности определенный маркер CD4 или CD8, а с другой, они являются «новыми» (наивными) Т-клетками, потому что еще не встречались с чужеродным АГ. Исследования на мышах показали, что в тимусе ежедневно образуется $1-2 \times 10^6$ наивных Т-клеток, которые обеспечивают постоянство лимфоидной популяции в периферической крови [172].

Наиболее быстро восстановление наивных Т-клеток происходит у детей и подростков, за счет исходно более активного функционирования тимуса. Уже на +100 день после алло-ТГСК у этих пациентов в периферической крови выявляется субпопуляция наивных Т-клеток [173–175]. Однако даже в детском возрасте полноценная реконституция описываемой субпопуляции занимает 1–2 года после алло-ТГСК [176].

С возрастом значительно уменьшается количество тимических эпителиальных кортикальных клеток, которые формируют стромальное микроокружение, необходимое для нормальной пролиферации и дифференцировки Т-клеток, что, в свою очередь, приводит к сниженной способности воспроизводить лимфоидную популяцию и поддерживать ее постоянство в физиологических условиях. Однако даже во взрослом возрасте (после 21 года) тимус продолжает генерировать новые субпопуляции иммунных клеток, хотя и менее активно [177, 178]. Многие исследования показали корреляцию между возрастом и функциональной способностью тимуса и доказали, что феномен возрастной инволюции тимуса несомненно оказывает влияние на реконституцию иммунной системы после алло-ТГСК [175, 176, 178]. Так, у молодых пациентов (медиана возраста 12 лет, 2–19 лет) после алло-ТГСК от неродственного донора нормальный уровень CD4⁺ достигается к году после алло-ТГСК, в сравнении с больными старшей возрастной группы (медиана возраста 38 лет, 20–59 лет), у которых уровень CD4⁺ приблизился к нормальным значениям только через 3 года после алло-ТГСК [179].

Кроме того, различные программы предтрансплантационного кондиционирования оказывают разное влияние на тимопоэз. Известно, что использование TОТ приводит к гибели эпителиальных кортикальных клеток тимуса, в результате чего, образование лимфоидных популяций становится практически невозможным, и, соответственно, реконституция иммунокомпетентных клеток занимает продолжительное время после алло-ТГСК даже у детей [180, 181]. Режимы пониженной интенсивности значительно меньше повреждают эпителиальные клетки тимуса, и реконституция в таких случаях происходит значительно быстрее [92, 182].

На тимопоэз оказывает влияние и РТПХ. Было показано, что у больных РТПХ определяется низкое количество наивных Т-клеток по сравнению с пациентами без РТПХ, что говорит о нарушении тимопоэза при РТПХ. Кроме того, проводимая иммуносупрессия с целью профилактики или лечения РТПХ дополнительно усиливает повреждение и нарушает процесс

реконституции иммунокомпетентных клеток [173, 183, 184]. На мышинной модели было показано, что при РТПХ донорские аллореактивные зрелые Т-клетки продуцируют большое количество интерлейкина 7, что приводит к необратимому повреждению (путем апоптоза) кортикальных эпителиальных клеток тимуса, и, как следствие, к длительной реконституции и Т-клеточному дефициту [185, 186].

Таким образом, полноценная реконституция адаптивного звена иммунной системы представляет собой длительный и сложный процесс, на который оказывает влияние множество факторов, связанных как с пациентами (возраст, предшествующие курсы химиотерапии), так и с самой алло-ТГСК (выбор донора, кондиционирование, иммуносупрессивная терапия, посттрансплантационные осложнения).

1.4 Т-клетки памяти

При алло-ТГСК развитие реакции «трансплантат против опухоли» (РТПО) является тем иммунологическим механизмом, который позволяет контролировать опухоль. Вместе с тем РТПХ является проявлением «чрезмерного иммунного ответа». Баланс между РТПХ и РТПО - ключевой фактор успешной алло-ТГСК, механизмом которого является формирование адекватного адаптивного иммунного ответа, который реализуется популяцией клеток памяти.

Феномен иммунологической памяти является главной составляющей вторичного (адаптивного) иммунного ответа, то есть иммунного ответа против конкретного АГ. Первоначально наивные Т-клетки связываются с АГ через соответствующие участки ТКР, что приводит к экспансии эффекторных клеток, осуществляющих иммунный ответ против этого АГ. В дальнейшем часть этих клеток погибает, а часть переходит в пул долго живущих иммунокомпетентных клеток (Т- и В-клеток), обеспечивающих более быстрый иммунный ответ при последующем попадании этого АГ [187].

По данным различных исследований главным «резервуаром» для клеток памяти является костный мозг [188, 189]. В исследованиях на мышах было показано, что CD8⁺ Т-клетки костного мозга обладают значимо большей противоопухолевой активностью и большим противоионфекционным потенциалом, в частности противовирусным, в сравнении с CD8⁺ Т-клетками периферической крови [190–192]. Однако дальнейшие исследования доказали, что в большей степени локализация в костном мозге свойственна субпопуляции «истинных клеток памяти», вследствие экспрессии на их поверхности хоуминг-рецепторов – CCR-7, L-селектина [193].

Клетки памяти представляют собой гетерогенную популяцию иммунокомпетентных клеток, которые принадлежат как к Т-, так и к В-клеткам и включают в себя отдельные субпопуляции иммунокомпетентных клеток, выполняющих определенные функции. В обзоре мы остановимся на субпопуляции Т-клеток памяти.

Условно Т-клетки памяти можно разделить на 2 большие группы: 1) истинные клетки памяти, главной функцией которых является хранение информации о конкретном АГ; 2) эффекторнeе клетки, функция которых заключается в формировании иммунного ответа против конкретного АГ [194]. Исследования показали, что гетерогенность Т-клеток памяти и их принадлежность к той или иной субпопуляции определяется экспрессией поверхностных рецепторов, функцией и локализацией отдельных клеток, а также различной пролиферирующей способностью. На основании этого Т-клетки памяти подразделяются на Т-наивные и стволовые клетки памяти (Tnv+scm), Т-клетки центральной памяти (Tcm), Т-клетки транзиторной памяти или переходные Т-клетки (Ttm), Т-клетки эффекторной памяти (Tem), Т-клетки терминальные эффекторы (Tte), Т-клетки резидуальной памяти (Ttm) [193, 195].

В 1980-е годы было выдвинуто предположение, что наивные Т-клетки и Т-клетки памяти экспрессируют различные поверхностные рецепторы: CD45RA, LFA-3 (CD58), LFA-1 (CDw29, сейчас CD11a), а также отличаются различной способностью связывать моноклональное антитело UCHL-1 (CD45R0) [196]. Так, было выявлено, что для Т-клеток памяти характерна экспрессия CD45R0, а наивные Т-клетки этот маркер не экспрессируют [197].

Многочисленные исследования выявили, что Т-клетки имеют различную тропность к различным тканям. Например, экспрессия хоуминг-рецептора CD62L (L-селектин) характерна в большей степени наивным Т-клеткам, которые преимущественно локализуются в костном мозге и лимфоидной ткани, а экспрессия CD103 и CLA говорит о локализации Т-клеток, являющихся более дифференцированными, в кишечнике и коже [198].

Кроме того, в дальнейшем была выявлена связь между функциональными особенностями Т-клеток и их иммунофенотипом. Так, различная экспрессия CD27 и CCR-7, характеризующая «хоуминг» к лимфоидной ткани (лимфатические узлы), вместе с экспрессией CD45RA определяет различные субпопуляции Т-клеток памяти: Т-клетки с иммунофенотипом CD45RA⁻CD27⁺ продуцируют большое количество интерлейкина-2 (ИЛ-2) и являются истинными клетками памяти (Tcm), которые не способны реализовать немедленный иммунный ответ против АГ, а Т-клетки с фенотипом CD45RA⁻CD27⁻ продуцируют большое количество интерферона-γ (INFγ), фактора некроза опухоли (TNF) и, наоборот, являются эффекторными клетками (Tem) – клетками, которые быстро реализуют иммунный ответ против АГ [190]. Также, было выявлено, что экспрессия поверхностного рецептора CCR-7 на Т-клетках

ассоциирована с продукцией ИЛ-2, а низкая экспрессия или отсутствие CCR-7 связано с продукцией Т-клетками высокоактивных цитокинов – ИЛ-4, ИЛ-5, IFN- γ . На основании этих данных Т-клетки с экспрессией CCR-7 принадлежат к субпопуляции T_{cm}, а Т-клетки без CCR-7 – к T_{em} [199]. В исследованиях на мышах было показано, что T_{cm} способны к длительной пролиферации в отсутствие АГ и, тем самым, к самоподдержанию клеточной субпопуляции. Вместе с тем, было доказано, что T_{cm} являются предшественниками эффекторного пула Т-клеток [200–202].

Дальнейшие исследования на резус-макаках показали, что способность клеток памяти к длительной пролиферации и самоподдержанию характерна не только для субпопуляции T_{cm}. Отдельно была выделена субпопуляция стволовых Т-клеток памяти (T_{scm}), которая иммунофенотипически (CD45RA⁺CD45R0⁻CCR7⁺CD62L⁺CD27⁺CD28⁺) в большей степени соответствовала наивным Т-клеткам, чем T_{cm} [203, 204]. В исследованиях была доказана в разы большая способность субпопуляции T_{scm} к самоподдержанию собственного пула при сравнении с субпопуляцией T_{cm}: при заражении макак вирусом иммунодефицита было выявлено, что субпопуляция T_{scm} способна к значимо более длительной пролиферации даже в условиях отсутствия вируса, чем субпопуляция T_{cm}. Кроме того, было выявлено, что T_{scm} являются предшественниками как T_{cm}, так и T_{em} [205, 206].

Было замечено, что на Т-клетках, которые экспрессируют на своей поверхности CCR-7 и CD62L, практически всегда определяются и такие маркеры как CD27 и CD28 [207]. Однако в ряде работ было замечено, что в периферической крови как у людей, так и у резус-макак встречается субпопуляция Т-клеток с иммунофенотипом CCR7/CD62L⁻CD28⁺. Было выявлено, что эта популяция Т-клеток является более «зрелой» и более «активной», чем субпопуляция T_{cm}, но менее дифференцированной, чем субпопуляция T_{em}. В дальнейшем эти клетки были названы переходными или транзиторными Т-клетками памяти (T_{tm}) [208–210].

При иммунофенотипировании часто в периферической крови у людей и у животных также определялась субпопуляция, клетки которой не несли на своей поверхности хоуминг-рецепторы, то есть были негативны по CCR-7, CD62L, а также не имели CD27, CD28. Эта популяция отличалась крайне низкой способностью к пролиферации, что свидетельствовало о высокой дифференцировке данных клеток. Эти клетки были определены как терминальные эффекторные клетки (T_{te}) [211].

В ряде исследований была определена нециркулирующая в периферической крови субпопуляция клеток памяти. Эти клетки были выделены в отдельную субпопуляцию Т-клеток резидуальной памяти (T_{rm}) благодаря наличию на их поверхности рецептора CD69. Чаще всего данные клетки определялись на слизистых. Клетки T_{rm} функционально являются

эффекторными клетками, реализующими иммунный ответ непосредственно в месте своей локализации [202].

Таким образом, пул Т-клеток памяти представляет собой гетерогенную группу отдельных субпопуляций Т-клеток, для которых характерен определенный иммунофенотип и которые отличаются своими функциями, степенью дифференцировки и пролиферирующей способностью (рисунок 1).

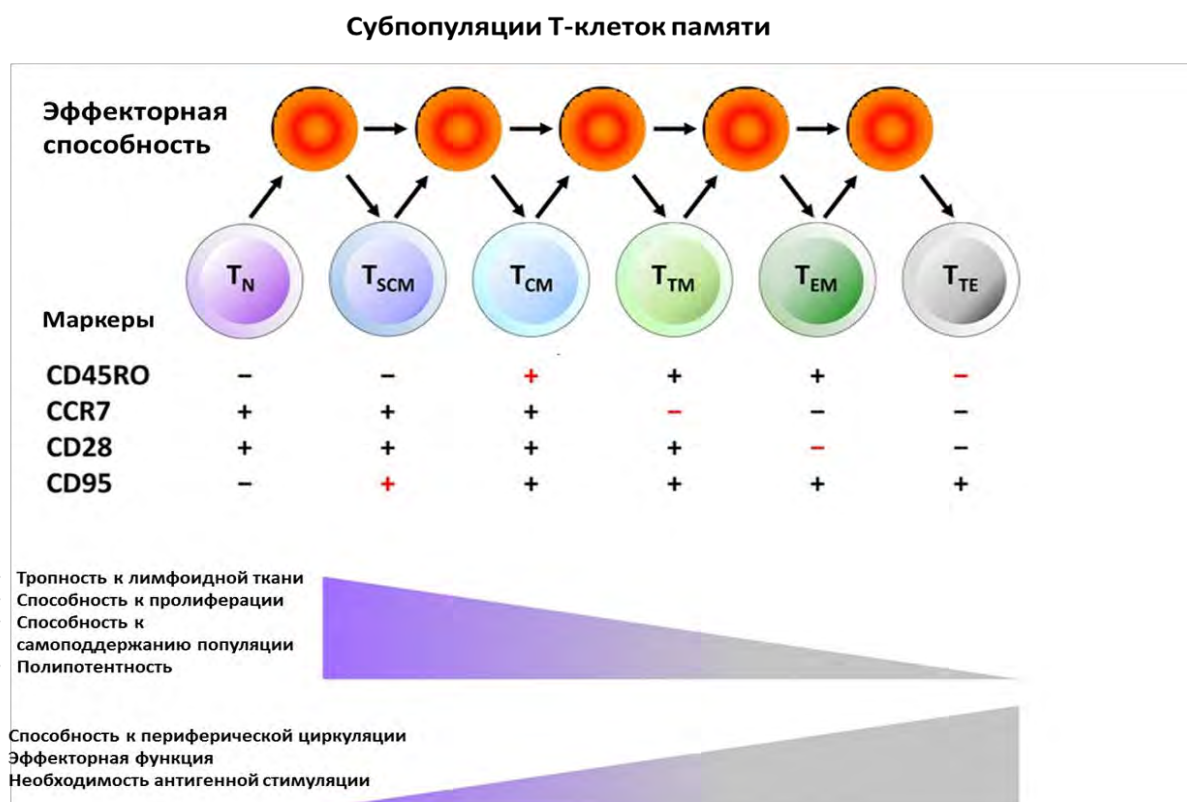


Рисунок 1 – Характеристика Т-клеток памяти (Mahnke, 2013 г.)

Как итог, можно выделить, что основными маркерами для иммунофенотипической оценки субпопуляций являются CD45R0, CCR-7, CD28 [212]. Субпопуляция T_{nv}+scm является предшественником для всех клеток памяти, обладает наибольшей пролиферирующей способностью, однако функционально является незрелой (то есть клетки не способны развить иммунный ответ). Наиболее дифференцированной и функционально активной является субпопуляция T_{te}, однако, вместе с тем, клетки этого пула не способны к пролиферации (таблица 2).

Таблица 2. Субпопуляции Т-клеток памяти

Иммунофенотип Т-клеток памяти	Субпопуляции Т-клеток памяти	Свойства
CD45R0 ⁻ CCR7 ⁺ CD28 ⁺	Т-наивные и стволовые клетки памяти (T _{nv} +T _{scm})	обеспечивает самообновление и самоподдержание популяции клеток памяти и хранение информации о конкретном антигене. Локализуются преимущественно в костном мозге и лимфотической ткани
CD45R0 ⁺ CCR7 ⁺ CD28 ⁺	Т-клетки центральной памяти (T _{cm})	обеспечивают самоподдержание Т-клеток памяти, преимущественно локализуются в лимфатических узлах и костном мозге, способны быстро дифференцироваться в эффекторные клетки через Т-клетки транзиторной памяти
CD45R0 ⁺ CCR7 ⁻ CD28 ⁺	Переходные или Т-клетки транзиторной памяти (T _{tm})	способны к быстрой дифференцировке в эффекторные клетки при контакте с антигеном, после чего они переходят в T _{cm}
CD45R0 ⁺ CCR7 ⁻ CD28 ⁻	Т-клетки эффекторной памяти (T _{em})	преимущественно определяются в циркулирующей крови и тканях, быстро реагируют на встречу с антигеном и обеспечивают развитие иммунного ответа
CD45R0 ⁻ CCR7 ⁻ CD28 ⁻	Т-терминальные эффекторы (T _{te})	наиболее дифференцированные эффекторные клетки, обеспечивающие быстрый иммунный ответ против конкретного антигена

Исследования по реконституции Т-клеток памяти после алло-ТГСК представлены в основном на мышинных моделях. В ряде работ было выявлено, что при развитии острой РТПХ главным «индуктором» является субпопуляция наивных Т-клеток (T_{nv}), которая дает начало и в дальнейшем поддерживает пул аллореактивных цитотоксических клеток [213, 214]. При этом у мышей с РТПХ Т-клетки памяти (T_{sm}) практически не выявлялись. Было выявлено, что T_{sm} при острой РТПХ в большей степени подвержены апоптозу, что с течением времени приводит к истощению этой субпопуляции [215]. Кроме того, было высказано предположение, что именно субпопуляция T_{sm} является одним из основных пулов, реализующих РТПО [213, 214, 216].

На основании полученных данных можно заключить, что использование T $\alpha\beta$ -деплеции как метода профилактики острой РТПХ при несовместимых алло-ТГСК представляется перспективным. Действительно, при таком варианте иммуносупрессии развития РТПХ практически не наблюдается (в виду отсутствия клеточного субстрата, а именно T_{nv}). Однако главными проблемами такого вида профилактики стали развитие рецидивов заболевания или тяжелых неконтролируемых вирусных инфекций в половине случаев [217–219]. Вместе с тем было показано, что обратная трансфузия фракции CD45RA⁻ Т-клеток на +1 день алло-ТГСК от гаплоидентичного донора позволяет существенно улучшить результаты, в виду того, что донорские Т-клетки памяти обеспечивают противoinфекционный, противоопухолевый ответ в то время, пока не восстановится пул наивных Т-клеток *de novo* [220]. Широкое использование этого метода профилактики острой РТПХ в настоящее время ограничено рядом факторов, а именно высокой стоимостью, необходимостью обеспечить исходно достаточно высокую клеточность трансплантата (8–10 x 10⁶/кг CD34⁺), необходимостью экспансии донорских клеток памяти.

1.5 Функциональные особенности Т-клеток

В основе способности опухоли уходить от иммунного ответа лежит механизм «контрольных иммунных точек». Иммунологические контрольные точки (ИКТ) – система ингибиторных механизмов, регулирующая иммунный ответ. В физиологических условиях ИКТ препятствует развитию аутоиммунных реакций, а также «чрезмерного» повреждения собственных тканей при развитии иммунного ответа против АГ [221]. Опухолевые клетки используют этот механизм с целью блокирования активации опухоль-специфических лимфоцитов и, тем самым, блокируют развитие иммунного ответа [5].

Т-клетки на своей поверхности экспрессируют рецепторы «контрольных точек»: PD-1 (Programmed Death-1), CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4), LAG-3 (Lymphocyte Activation Gene-3), TIM-3 (T cell Immunoglobulin and Mucin protein-3) и другие [221]. Опухолевая клетка через соответствующий лиганд (B7-1- и B7-2-лиганды для рецептора CTLA-4, PD-L1- и PD-L2- лиганды для рецептора PD-1) связывается со своим рецептором на Т-клетке, в результате чего подавляется активация Т-клеток [222]. Через CTLA-4 – ассоциированный путь преимущественно происходит регуляция T_h1 клеток при взаимодействии с АГ, а также происходит регуляция активности регуляторных Т-клеток (Tregs). PD-1 – ассоциированный путь является ключевым при развитии хронической АГ-стимуляции (то есть при хронических вирусных инфекциях, опухолях), что проявляется в ингибировании Т-клеточной пролиферации, снижении продукции цитокинов Т-клетками и Т-клеточному апоптозу. При этом PD-1 – опосредованный путь приводит к более мощному ингибированию Т-клеточной активности, чем CTLA-4 – ассоциированный [223].

В 1992 г. Y. Ishida с соавторами впервые выделили внутриклеточный рецептор PD-1 (CD279), который отвечает за развитие Т-клеточного апоптоза [224]. В дальнейшем на мышах было выявлено, что PD-1 является поверхностным рецептором, который экспрессируется на тимоцитах. Применение моноклонального АГ анти-CD3⁺ приводило к подавлению активности PD-1⁺ тимоцитов [225].

В настоящее время известно, что PD-1 экспрессируется на поверхности многих клеток: на CD4⁺, CD8⁺ Т-клетках, NK, моноцитах, В-клетках, дендритных клетках [226, 227]. Было выявлено, что экспрессия PD-1 отличается в различных субпопуляциях клеток. Кроме того, на экспрессию PD-1 влияют различные воспалительные медиаторы. Так, ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-15, ИЛ-21, интерфероны, усиливают экспрессию PD-1 на CD8⁺ цитотоксических Т-клетках [228].

В 2000 г. G. Freeman с коллегами в своей работе сообщили о взаимодействии рецептора PD-1 с лигандом – PD-L1, в результате которого блокировалась функция CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов [229]. В последующем был открыт второй лиганд PD-L2 [230]. В физиологических условиях PD-L1 экспрессируется на поверхности Т-, В-клеток, дендритных клеток, мезенхимальных стромальных клеток, а также на неиммунных клетках: на эндотелиальных, эпителиальных клетках, миоцитах, гепатоцитах, клетках островков Лангерганса. PD-L2 экспрессируется, в основном, под воздействием провоспалительных цитокинов, преимущественно на поверхности моноцитов и дендритных клеток. Кроме того, PD-L2 обладает большей аффинностью к PD-1 нежели PD-L1 [227, 231]. Экспрессия PD-L1, PD-L2 определяется наличием медиаторов воспаления, таких как TNF- α , IFN- γ , что приводит к усилению экспрессии этих лигандов на поверхности клеток [226, 228].

В дальнейшем было показано, что PD-1/PD-L1-опосредованный путь приводит к ингибированию синтеза транскрипционных факторов, которые необходимы для активации эффекторных Т-клеток, а также – к необратимым метаболическим изменениям в самих Т-клетках, что, в свою очередь, нарушает их эффекторную функцию [232, 233]. PD-1/PD-L1-ассоциированный путь стимулирует дифференцировку и пролиферацию Tregs, которые обладают супрессивным воздействием на пул эффекторных Т-клеток [234]. Исследования на мышах показали, что отсутствие PD-L1 на клетках приводит к более быстрому взаимодействию CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток с антиген-презентирующими клетками (АПК) [235].

В настоящее время считается, что PD-1/PD-L1- ассоциированный путь является главным механизмом, блокирующим Т-клеточный иммунный ответ. Было показано, что наличие местного воспаления в тканях стимулирует активацию PD-1/PD-L1-пути, что защищает собственные ткани от чрезмерной Т-клеточной активности и тотального повреждения, в результате чего очаг воспаления носит ограниченный характер. Таким образом, PD-1/PD-L1 в физиологических условиях является главным механизмом формирования иммунологической толерантности [236].

D. Chen и I. Mellman в 2013 г. описали механизм противоопухолевого иммунного ответа. Они выделили 4 этапа. Первый – презентирование опухолевого АГ дендритными клетками. Второй – активация периферических иммунокомпетентных клеток, которые вырабатывают различные хемокины, интерфероны, что приводит к экспансии цитотоксических CD8⁺ Т-клеток. Третий – инфильтрация опухолевой ткани Т-клетками. Последний – распознавание Т-клетками опухолевых клеток и Т-клеточный апоптоз [237]. Вместе с тем наблюдается и развитие иммунологической толерантности через PD-1-ассоциированный путь в ответ на продукцию периферическими иммунными Т-клетками большого количества IFN- γ и ИЛ-2 [238]. Многие исследователи говорили о главенствующей роли именно IFN- γ и ИЛ-2 в механизме противоопухолевого иммунного ответа [239, 240], что послужило основанием для развития таргетной иммунотерапии [241]. Так, первый препарат из группы ингибиторов контрольных точек – ипилимумаб (анти-CTLA-4 моноклональное АТ) был одобрен «Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов», США (Food and Drug Administration, FDA, USA) для лечения больных злокачественной формой меланомы в 2011 г. Монотерапия ипилимумабом впервые показала, что больные с терминальными стадиями меланомы могут успешно лечиться – 22% больных прожили более 3 лет на фоне лечения этим препаратом [242]. В 2014 г. для лечения злокачественных форм меланомы и немелкоклеточного рака легких FDA одобрил первый препарат с анти-PD-1 активностью – ниволумаб. Результаты показали его высокую эффективность: 45% пациентов с терминальной стадией меланомы

достигли полной ремиссии при применении ниволумаба в качестве первой линии терапии, у 20% с немелкоклеточным раком легких на фоне прогрессии после стандартных схем химиотерапии был получен ответ после использования ниволумаба в монорежиме [243, 244]. В дальнейшем ниволумаб был одобрен в качестве терапии второй линии пациентов с метастатической карциномой почек. Было показано, что такая терапия позволяет достичь полной ремиссии в 25% случаев [245]. В 2015 г. FDA одобрило ниволумаб для терапии пациентов с резистентным течением лимфогранулематоза, а также атезолизумаб (анти-PD-L1) для терапии пациентов с продвинутыми стадиями рака мочевого пузыря [246]. В настоящее время число «ингибиторов контрольных точек» постоянно растет, появляются все новые и новые препараты для лечения различных злокачественных заболеваний.

Исследования по экспрессии PD-1 и других маркеров проводятся и при различных гемобластозах. Так, было показано, что при ОМЛ наблюдается высокая экспрессия PD-1 в сочетании с TIM-3⁺ (Т-клеточный иммуноглобулин и муциновый домен 3) на Т-клетках, что ассоциировано с отсутствием продукции этими клетками ИЛ-2, IFN- γ , TNF- α , что в дальнейшем приводит к истощению этого Т-клеточного пула. Кроме того, выявление PD-1⁺TIM-3⁺ Т-клеток было ассоциировано с последующим развитием рецидива ОМЛ [247, 248]. Также было выявлено, что при ОМЛ бластные клетки экспрессируют на своей поверхности PD-L1 [249]. Другое исследование показало, что у больных с продвинутой стадией хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) значимо чаще выявлялась субпопуляция CD4⁺PD-1⁺ Т-клеток в сравнении с больными на начальной стадии ХЛЛ с минимальной предлеченностью [250]. У больных миелодиспластическим синдромом (МДС) и хроническим миеломоноцитарным лейкозом (ХММЛ), которые не ответили на терапию гипометилирующими препаратами наблюдалась значимо более высокая экспрессия PD-L1 на CD34⁺ клетках и бластных клетках, и PD-1 и CTLA-4 на стромальных клетках, в сравнении с теми пациентами, которые достигли полной ремиссии заболевания [251].

Что касается больных после алло-ТГСК, то, например, в работе Н. Schade и соавторов была выявлена значимо более высокая экспрессия PD-1 на CD4⁺ Т-клетках у пациентов после алло-ТГСК с использованием пуповинной крови в качестве источника трансплантата, которые погибли в течение первого года после алло-ТГСК (64,6%), в сравнении с живыми пациентами (34,1%, $p = 0,001$) [252]. В другом исследовании было показано, что высокая экспрессия PD-1 на CD8⁺ Т-клетках была ассоциирована с развитием рецидива заболевания после алло-ТГСК [253].

Таким образом, многие работы показывают, что механизмы «контрольных точек» несомненно являются одними из ключевых при развитии противоопухолевого иммунного

ответа. Применение таргетных препаратов – ингибиторов контрольных точек, является перспективным направлением, которое в будущем позволит улучшить результаты выживаемости больных гемобластозами.

Заключение

Таким образом, успех трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток определяется многими факторами, такими как выбор предтрансплантационного кондиционирования, проводимой иммуносупрессивной терапией, грамотной сопроводительной терапией, а также осложнениями которые развиваются в раннем посттрансплантационном периоде, наиболее значимыми из которых являются реакция «трансплантат против хозяина» и рецидив заболевания. Однако определяющим фактором является своевременная и полноценная реконституция иммунной системы, в первую очередь, Т-клеточного звена. Наше исследование посвящено изучению восстановления адаптивного иммунного ответа, в ходе которого реализуются главные иммунологические реакции – «трансплантат против хозяина» и «трансплантат против опухоли», у пациентов в первые полгода после алло-ТГСК.

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Клиническая характеристика больных

В исследование включено 65 пациентов с острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) за период с сентября 2016 года по февраль 2019 года. Все пациенты наблюдались в отделении интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава РФ (руководитель отдела, д.м.н. Паровичникова Е.Н., заведующая отделением, к.м.н. Кузьмина Л.А.).

Отбор пациентов на трансплантацию осуществлялся на основании комплексного обследования, который включал в себя: наличие показаний для проведения алло-ТГСК, наличие совместимого донора (родственного HLA-идентичного, неродственного HLA-идентичного или частично совместимого донора, гаплоидентичного донора), оценка соматического статуса, отсутствие противопоказаний для проведения алло-ТГСК и наличие подписанного информированного согласия.

Медиана возраста больных, включенных в исследования, составила 33 (17–61) года. У 40 больных был диагностирован острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), у 21 – острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), у 4 – острый лейкоз смешанного фенотипа. Большинство пациентов (n = 63) находились в ремиссии, у 2 больных констатирован цитогенетический рецидив заболевания перед началом предтрансплантационного кондиционирования (1 пациент с Ph⁺ ОЛЛ, 1 пациент с ОМЛ из МДС с делецией 7q-). Подробная характеристика пациентов, включенных в исследование, приведена в таблицах 3 и 4.

Таблица 3. Характеристика пациентов, включенных в исследование

Характеристики	Диагноз (n = 65)		
	ОМЛ (n = 40)	ОЛЛ (n = 21)	Острый лейкоз смешанного фенотипа (n = 4)
Медиана возраста	35 (18–60)	30 (17–61)	41 (34–57)
Пол (м/ж), n	19/21	12/9	1/4
Ремиссия 1, n	31 (77,5%)	11 (52,4%)	2 (50%)
Ремиссия 2, n	7 (17,5%)	9 (42,8%)	2 (50%)
Ремиссия 3, n	1 (2,5%)	–	–

Рецидив, n	1 (2,5%)	1 (4,8%)	–
------------	----------	----------	---

Таблица 4. Факторы риска у пациентов в ремиссии 1

Факторы риска	ОМЛ (n = 31)	ОЛЛ (n = 11)	Острый лейкоз смешанного фенотипа (n = 2)
МРБ+	7 (22,6%)	4 (36,4%)	2 (100%)
Первично-резистентное течение	5 (16,1%)	1 (9,0%)	–
Делеция 7q / Моносомия 7	4 (12,9%)	–	–
Делеция 5q	1 (3,2%)	–	–
t (9;22)	–	6 (54,5%)	2 (100%)
FLT3+	4 (12,9%)	–	1 (50%)
t (8;21), МРБ+	3 (9,7%)	–	–
Комплексный кариотип	3 (9,7%)	–	–

2.2 Предтрансплантационное кондиционирование

Всем пациентам, включенным в исследование, проводили предтрансплантационное кондиционирование. Миелоаблативный режим (МАС) использовали у 20 пациентов, режим пониженной интенсивности (RIC) – у 45.

Молодым больным (медиана 25 (17–41) лет) без сопутствующей патологии алло-ТГСК была выполнена в миелоаблативном режиме. У 12 пациентов (медиана 28 (22–32) лет) использовали классический режим BuSu: бусульфан 4 мг/кг/сут в –6, –5, –4 дни (суммарно 12 мг/кг), циклофосфамид 60 мг/кг/сут в –3, –2 дни (суммарно 120 мг/кг). 8 пациентам (медиана 20 (17–41) лет) выполняли алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора (гапло-ТГСК) с TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией в режиме TreoThiotepaFlu: треоосульфан 14 г/м²/сут в –5, –4, –3 дни (суммарно 42 г/м²), тиотепа 5 мг/кг/сут в –6, –5 дни (суммарно 10 мг/кг), флударабин 30 мг/м²/сут в –6, –5, –4, –3, –2 дни (суммарно 150 мг/м²).

В остальных случаях применялся режим пониженной интенсивности (RIC). У 38 пациентов (медиана возраста 38 (20–61) лет) использовали классический режим FluBu: флударабин 30 мг/м²/сут в –10, –9, –8, –7, –6, –5 дни (суммарно 180 мг/м²), бусульфан 4 мг/кг/сут в –6, –5 дни (суммарно 8 мг/кг). 7 пациентам перед гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией (32 (19–57) лет) проводили кондиционирование по схеме TreoMelFlu: треоосульфан 14 г/м²/сут в –5,

–4 –3 дни (суммарно 42 г/м²), мелфалан 70 мг/м²/сут в –3, –2 дни (суммарно 140 мг/м²), флударабин 30 мг/м²/сут в –6, –5, –4, –3, –2 дни (150 мг/м²).

Схемы предтрансплантационного кондиционирования представлены в приложении 1.

2.3 Варианты алло-ТГСК

После завершения предтрансплантационного кондиционирования в день 0 всем пациентам была выполнена трансфузия аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора была проведена 13 пациентам, от родственного частично совместимого донора – 1, от родственного гаплоидентичного донора – 20, от неродственного HLA-идентичного донора – 19, от неродственного частично совместимого донора – 12.

В качестве источника трансплантата использовали костный мозг (КМ) у 22 пациентов и периферические стволовые клеточные клетки (СКК) – у 43.

Выбор донора и источника трансплантата у больных острыми лейкозами, включенных в исследование, представлен в таблице 5.

Таблица 5. Выбор донора и источника трансплантата у пациентов, включенных в исследование.

Донор	Источник трансплантата	ОМЛ, кол-во пациентов (n = 40)	ОЛЛ, кол-во пациентов (n = 21)	Острый лейкоз смешанного фенотипа, кол-во пациентов (n = 4)
Родственный HLA-идентичный	КМ	8	1	1
	СКК	2	1	–
Родственный частично совместимый	КМ	1	–	–
	СКК	–	–	–
Родственный гаплоидентичный	КМ	1	1	–
	СКК	7	8	3

Неродственный HLA-идентичный	КМ	7	2	–
	СКК	6	4	–
Неродственный частично совместимый	КМ	–	–	–
	СКК	8	4	–

2.4 Профилактика острой реакции «трансплантат против хозяина»

С целью профилактики острой реакции трансплантат против хозяина (РТПХ) всем пациентам проводили различные схемы иммуносупрессивной терапии (ИСТ).

Классический режим применяли у 32 больных после алло-ТГСК от полностью совместимого родственного или неродственного донора, и включал в себя антитимоцитарный глобулин (АТГ) в суммарной дозе 40 мг/кг (по 10 мг/кг в –4, –3, –2, –1 дни), циклоспорин А (CsA) в стартовой дозе 3 мг/кг/сут с –1 дня, малые дозы метотрексата (МТХ) – в +1 день 15 мг/м²; в +3, +6, +11 – по 10 мг/м²/сут, микофенолата мофетил (ММФ) с +1 дня – 2 г/сут – при алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора, 3 г/сут – при алло-ТГСК от неродственного HLA-идентичного донора.

В случае алло-ТГСК от частично совместимого или гаплоидентичного донора использовали альтернативный вариант иммуносупрессивной терапии, включающий высокодозный циклофосфамид в дозе 50 мг/кг/сут на +3, +4 день в сочетании с АТГ + CsA + ММФ (n = 18).

15 пациентам выполнили алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с *ex vivo* TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплецией. Манипуляция с трансплантатом проводилась на базе Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева и заключалась в иммуномагнитной сортировке клеток на приборе CliniMACS Plus в соответствии с рекомендациями производителя (Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия). В качестве дополнительной иммуносупрессивной терапии у этих больных применяли ритуксимаб 100 мг/м² в –1 день, бортезомиб 1,3 мг/м²/сут подкожно в –5, –2, +2, +5 дни, тоцилизумаб 8 мг/кг в –1 день, абатацепт 10 мг/кг/сут в –1, +7, +14, +28 дни.

Схемы иммуносупрессивной терапии, которые использовали у пациентов в этом исследовании, приведены в приложении 2.

Выбор режима профилактики острой РТПХ в зависимости от варианта алло-ТГСК представлен в таблице 6.

Таблица 6. Режим профилактики острой РТПХ в зависимости от варианта алло-ТГСК.

Вариант алло-ТГСК	Профилактика острой РТПХ		
	Классическая ИСТ (АТГ+CsA+MTX+ММФ) (n = 32)	ПТ-ЦФ на +3, +4 день (АТГ+ПТ- ЦФ+CsA+ММФ) (n = 18)	TCR $\alpha\beta$ -/CD19- деплегция (n = 15)
Родственная полностью совместимая (10/10)	13 (40,6%)	–	–
Родственная частично совместимая (9/10)	–	1 (5,6%)	–
Родственная гаплоидентичная	–	5 (27,8%)	15 (100%)
Неродственная полностью совместимая (10/10)	19 (59,4%)	–	–
Неродственная частично совместимая (9/10, 8/10)	–	12 (66,7%)	–

2.5 Объем исследований и временной регламент

2.5.1 Исследуемая группа

Исследование реконституции различных субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК мы проводили на +30, +60, +90, +180 дни. Для этого в указанные сроки мы использовали 1 мл периферической крови (ПК) и строго первый мл костного мозга (КМ). В связи с тем, что определение клеточных субпопуляций мы проводили в ранние сроки после алло-ТГСК, другими словами, в условиях «редких событий», целесообразным является использование, так называемой, «первой капли» КМ. На преаналитическом этапе было показано, что клеточность образцов костно-мозговой взвести, получаемых при пункционной биопсии костного мозга пациента – «первой капли» (первого

мл) и второго мл, различается более чем в три раза ($133,1 \times 10^9$ ($42,2-321,5 \times 10^9$) кл/мкл и $40,5 \times 10^9$ ($13,8-157,9 \times 10^9$) кл/мкл, соответственно, $p = 0,007$) (рисунок 2) [254].

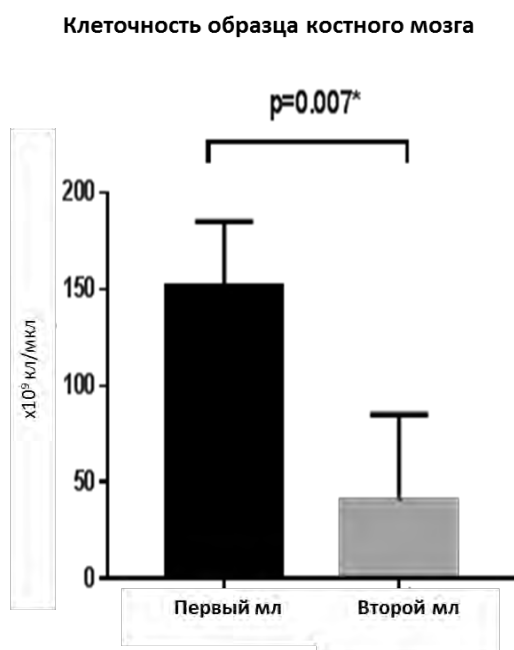


Рисунок 2 – Клеточность образцов костно-мозговой взвеси, получаемых при пункционной биопсии костного мозга пациента (Drokov M. et al., 2017)

2.5.2 Группа контроля

Мы исследовали те же субпопуляции Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга у здоровых доноров. В группу контроля было включено 10 здоровых родственных доноров костного мозга, которым проводили эксфузию костного мозга с целью дальнейшей трансплантации HLA-совместимому реципиенту. Медиана возраста составила 29 (18–40) лет, 5 мужчин и 5 женщин. У всех доноров, включенных в исследование, было получено информированное согласие. Забор образцов периферической крови и костного мозга осуществляли во время эксфузии костного мозга.

Алгоритм исследования субпопуляций Т-клеток памяти приведен в таблице 7.

Таблица 7. Алгоритм исследования субпопуляций Т-клеток памяти у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и у здоровых доноров.

Исследуемые субпопуляции Т-клеток	Имунофенотип исследуемых субпопуляций Т-клеток	День после алло-ТГСК				Здоровые доноры
		+30	+60	+90	+6мес	
Т-наивные и стволовые клетки памяти (Tnv+Tscm)	CD8 ⁺ /CD4 ⁺ CD45R0 ⁻ CCR7 ⁺ CD28 ⁺ PD1 ^{+/-}	ПК ¹ КМ ²	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ
Т-клетки центральной памяти (Tcm)	CD8 ⁺ /CD4 ⁺ CD45R0 ⁺ CCR7 ⁺ CD28 ⁺ PD1 ^{+/-}	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ
Т-клетки транзитной памяти (Ttm)	CD8 ⁺ /CD4 ⁺ CD45R0 ⁺ CCR7 ⁻ CD28 ⁺ PD1 ^{+/-}	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ
Т-клетки эффекторной памяти (Tem)	CD8 ⁺ /CD4 ⁺ CD45R0 ⁺ CCR7 ⁻ CD28 ⁻ PD1 ^{+/-}	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ
Т-терминальные эффекторы (Tte)	CD8 ⁺ /CD4 ⁺ CD45R0 ⁻ CCR7 ⁻ CD28 ⁻ PD1 ^{+/-}	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ	ПК КМ
1 Исследование субпопуляций периферической крови						
2 исследование субпопуляций костного мозга						

2.6 Многоцветная проточная цитометрия

Исследование проводили в научно-клинической лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга (зав. лабораторией, к.м.н. Гальцева И.В.).

Для определения субпопуляций Т-клеток памяти в контрольные сроки после алло-ТГСК применяли метод многоцветной проточной цитометрии (BD FACS Canto II, Becton Dickinson, USA). Для исследования использовали нативные образцы периферической крови и костного мозга пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК в контрольные сроки. Сначала определяли абсолютное количество лейкоцитов периферической крови и костного мозга с

помощью гематологического анализатора Sysmex ХЕ-2100. Для иммунофенотипического анализа использовали 1,5 млн. лейкоцитов. Далее применяли метод «лизиса с отмывкой», согласно инструкции производителя (Beckton Dickinson).

Для определения экспрессии поверхностных антигенов в полученную лейкоцитарную взвесь добавляли антитела: анти-CD8-APC-Cy7, анти-CCR7-PE-Cy7, анти-CD28-PE, анти-CD45R0-FITC, анти-CD3-FITC/CD4-PE, анти-PD1-APC (Becton Dickinson, USA). Далее при комнатной температуре в темноте происходила инкубация в течение 15 минут. После этого пробы откручивали в течение 3,3 минут.

Далее проводилось последовательное выделение исследуемых субпопуляций Т-клеток. Для этого сначала с помощью прямого и бокового светорассеяния (FSC vs SSC гейтирование) были выделены все единичные события в образце. Далее были выделены все события, являющиеся лимфоцитами, после чего были определены популяции CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток (рисунок 3, А-В. На рисунке показано выделение CD8⁺ клеток).

Следующим этапом (отдельно для CD4⁺ и CD8⁺ клеток) на основании экспрессии CD45R0 и CCR-7 были выделены 4 популяции Т-клеток, (рисунок 3, Г):

CD45R0⁻CCR-7⁺ – соответствующие субпопуляции Tnv+scm (гейт Г-1),

CD45R0⁺CCR-7⁺ – соответствующие субпопуляции Tcm (гейт Г-2),

CD45R0⁻CCR-7⁻ – соответствующие субпопуляции Tte (гейт Г-3),

CD45R0⁺CCR-7⁻ – соответствующие субпопуляции Tem (гейт Г-4).

Далее на основании экспрессии CD28 производилось окончательное определение субпопуляций Tcm, Ttm, Tem, Tte. Из гейта Г-2 были выделены CD28⁺-события, которые соответствовали субпопуляции Tcm (рисунок 3, Д). Из гейта Г-4 были выделены CD28⁺-события, которые соответствовали популяции Ttm, а CD28-негативные события соответствовали субпопуляции Tem (рисунок 3, Е). Из гейта Г-3 CD28-негативные события соответствовали субпопуляции Tte (рисунок 3, Ж).

Отдельно в каждой субпопуляции определяли долю клеток, экспрессирующих PD-1 (рисунок 3, З. На рисунке показан пример CD8⁺ PD-1⁺ субпопуляции). Для негативного контроля применяли метод «флуорохром-минус-один» (Fluorescence Minus One Control, FMO-контроль) (рисунок 3, И).

Таким образом, в результате были выделены следующие субпопуляции Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга:

Т-наивные и стволовые клетки памяти (Tnv+Tscm) – CD8⁺/CD4⁺ CD45R0⁻CCR7⁺CD28⁺ PD-1^{+/};

Т-клетки центральной памяти (Tcm) – CD8⁺/CD4⁺ CD45R0⁺CCR7⁺CD28⁺ PD-1^{+/};

Т-клетки транзитной памяти (Ttm) – CD8⁺/CD4⁺ CD45R0⁺CCR7⁻CD28⁺ PD-1^{+/};

Т-клетки эффекторной памяти (Tem) – $CD8^+/CD4^+ CD45R0^+CCR7^+CD28^-PD-1^{+/-}$;
 Т- терминальные эффекторы (Tte) – $CD8^+/CD4^+ CD45R0^-CCR7^-CD28^-PD-1^{+/-}$.

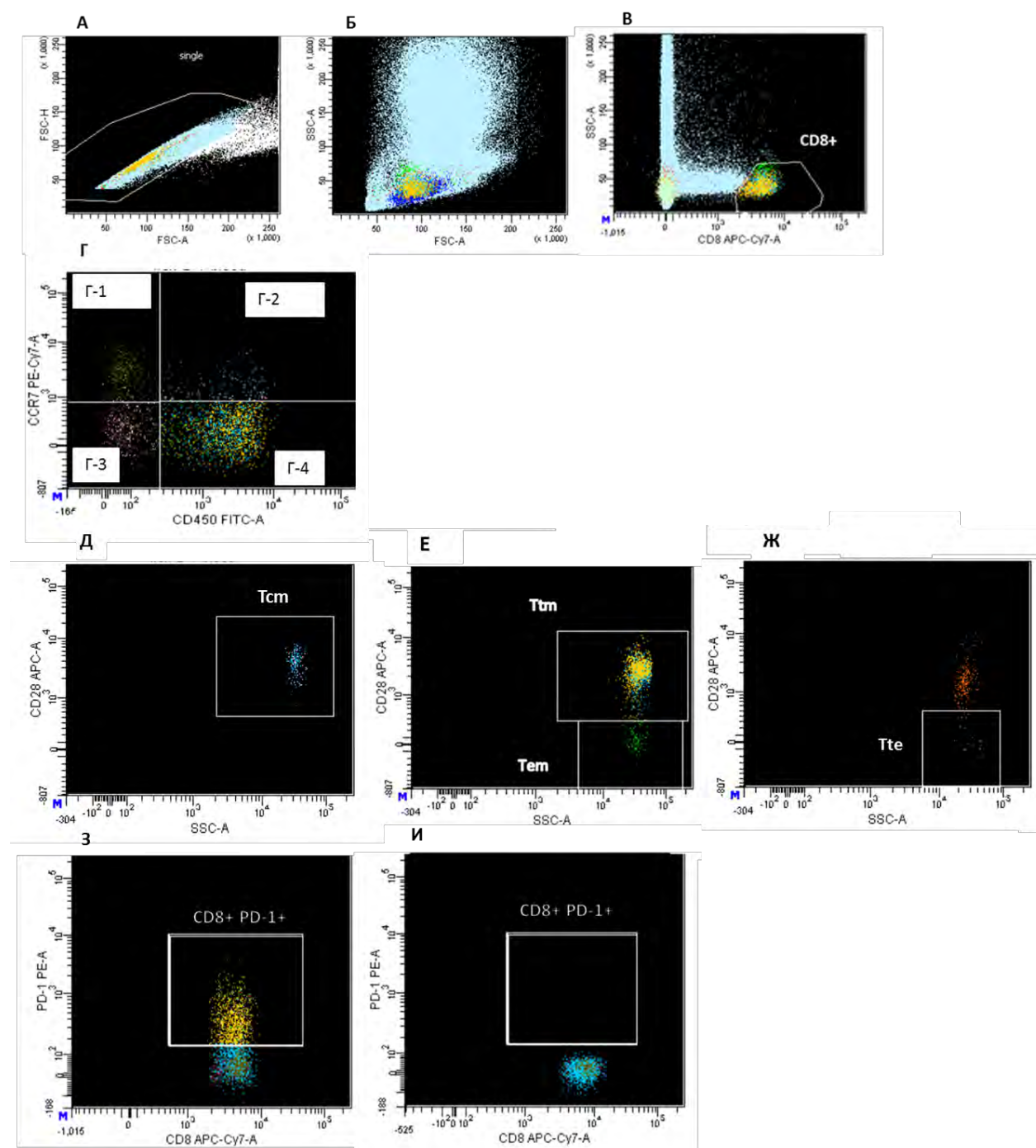


Рисунок 3 – Определение субпопуляций Т-клеток. А – единичные события в образце, Б – выделение событий, которые являются лимфоцитами, В – выделение популяции $CD8^+$, Г – определение субпопуляций Tnv+scm, Tcm, Tte, Tem, на основании экспрессии $CD45R0$ и $CCR7$, Д – определение популяции Tcm, Е – определение субпопуляций Ttm и Tem на основании экспрессии $CD28$, Ж – определение субпопуляции Tte, З – выделение популяции $PD-1^+$ - клеток, И – FMO-контроль.

2.7 Статистический анализ данных

Статистический анализ данных проводился с использованием статистического пакета IBM SPSS v.23 (США), R 3.4.2 (США). С целью проверки нормальности распределения исследуемых выборок был использован критерий Шапиро-Уилка. Учитывая распределение отличное от нормального, для дальнейшей оценки различий между тремя и более независимыми выборками использовался критерий Краскела — Уоллиса, между двумя независимыми выборками - U-критерий Манна-Уитни. Учитывая малые выборки и распределение отличное от нормального, для анализа повторных измерений (динамики) был использован критерий Фридмана. Для анализа таблиц сопряжённости использовался критерий хи-квадрат, для таблиц 2 x 2 применялся точный тест Фишера. Анализ общей и безрецидивной выживаемости проводился с использованием метод Каплан-Мейера, для сравнения двух кривых выживаемости применялся log-ранк тест.

Данные представлены посредством медианы, межквартильного интервала – разницы между 1-м и 3-м квартилями (то есть между 25-м и 75-м процентилями). Графические данные представлены в виде «боксов с усами», на которых обозначены медиана, 25 перцентиль и 75 перцентиль, «усами» показаны значения 25-го и 75-го процентиля $\pm 1,5$ величины межквартильного размаха. Точками на графиках отображены «выбросы» – значения, попадающие в интервал 1,5–3-х величин межквартильного размаха. Звездочкой обозначены экстремальные значения, принимающие значение более 3-х величин межквартильного размаха. Для демонстрации динамики был использован линейный график, на котором отражены медианы групп.

Глава 3. Результаты исследования

3.1 Клинические результаты исследования

У всех пациентов ($n = 65$), включенных в исследование, было констатировано приживление трансплантата. За приживление мы считали восстановление числа лейкоцитов периферической крови $1,0 \times 10^9/\text{л}$ и более, и восстановление нейтрофилов $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и более. Медиана времени восстановления лейкоцитов у пациентов в нашем исследовании составила 21 (9–47) дней, медиана восстановления нейтрофилов – 23 (10–98) дня. Приживление тромбоцитарного ростка констатировано у 59 больных. За приживление тромбоцитов мы считали восстановление числа тромбоцитов периферической крови $20 \times 10^9/\text{л}$ и более, без зависимости от трансфузий тромбоконцентрата минимум в течение 7 дней. Медиана времени восстановления тромбоцитарного ростка составила 19 (9–46) дней.

На + 30 день у всех пациентов выполняли контрольное исследование костного мозга, на основании которого у всех пациентов была констатирована МРБ-негативная ремиссия острого лейкоза и молекулярно-генетическим методом подтверждено 100% донорское кроветворение. Однако в последующем у 5 (7,7%) больных было отмечено появление и нарастание собственного кроветворения, у 6 (9,2%) – констатирована вторичная несостоятельность трансплантата.

Острая РТПХ II–IV степени развилась у 18 из 65 (27,7%) больных. Медиана времени развития острой РТПХ составила 87 (22–178) дней. У 5 из 18 (27,7%) пациентов острая РТПХ развилась после предшествующей трансфузии лимфоцитов донора ввиду смешанного химеризма.

Рецидив острого лейкоза после +1 месяца констатирован у 14 из 65 (21,5%) пациентов. Клинико-гематологический рецидив острого лейкоза диагностирован у 7 больных ОМЛ на сроках +2 ($n = 2$), +3, +4, +8, +11 и +12 месяцев, и 3 – с ОЛЛ на +8, +10, +12 месяцев. У 1 пациента был диагностирован экстрамедуллярный рецидив ОМЛ на +9 месяцев после алло-ТГСК. У 1 больного Ph^+ ОЛЛ и у 1 пациента с ОМЛ с $t(15;17)$ был диагностирован молекулярный рецидив на сроках +2 и +3 месяца, соответственно. У 1 пациента развился изолированный нейрорецидив Ph^+ ОЛЛ через 2 года после алло-ТГСК.

Всего умерло 19 пациентов: 4 с несостоятельностью трансплантата – в результате неприживления после второй алло-ТГСК, 7 больных – в результате рецидива острого лейкоза, 4 – в виду резистентного течения острой РТПХ, 4 – в результате множественных инфекционных осложнений и септического шока.

Общая выживаемость (ОВ) в течение 30 месяцев в нашем исследовании составила 51,8%, безрецидивная выживаемость (БРВ) – 41,6% (рисунок 4, А–Б). Для пациентов в первой ремиссии – 58% и 50,5%, соответственно (рисунок 4, В–Г).

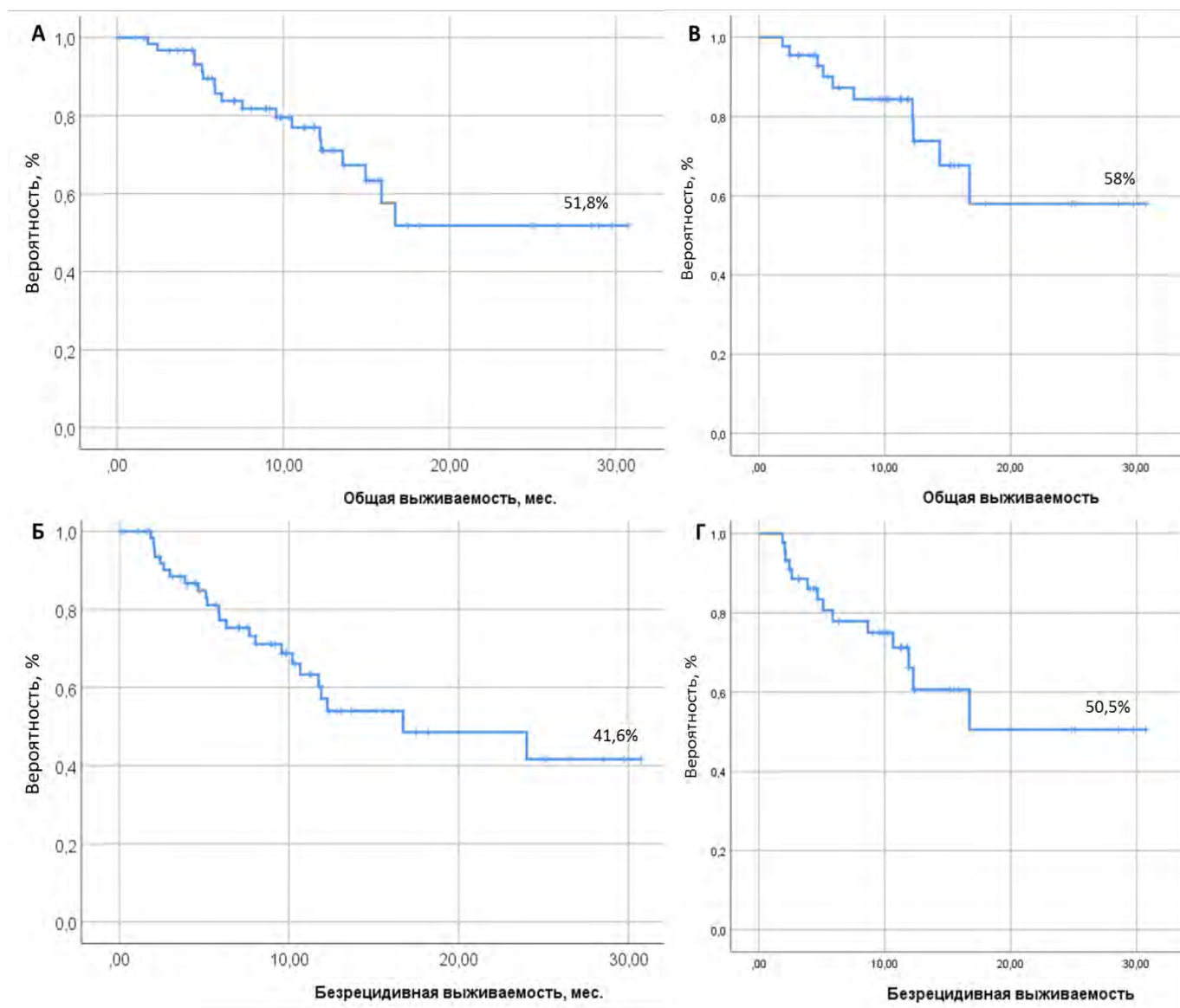


Рисунок 4 – Выживаемость больных острыми лейкозами после алло-ТГСК. А – общая выживаемость пациентов после алло-ТГСК, включенных в исследование, Б – безрецидивная выживаемость больных после алло-ТГСК, включенных в исследование, В – общая выживаемость пациентов после алло-ТГСК в первой ремиссии, Г – безрецидивная выживаемость пациентов после алло-ТГСК в первой ремиссии

3.2 Влияние режима профилактики острой РТПХ на результаты алло-ТГСК у больных острыми лейкозами

В зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ все пациенты, включенные в исследование, были разделены на 3 группы (таблица 5). Первая ($n = 32$) включила больных после алло-ТГСК от HLA-идентичных родственного или неродственного доноров, которым проводили классический режим иммуносупрессивной терапии с АТГ в сочетании с CsA + ММФ + МТХ. Вторая группа пациентов ($n = 18$) – это больные после алло-ТГСК от неродственного частично совместимого донора или родственного гаплоидентичного донора, которым с целью индукции толерантности вводили ПТ-ЦФ на +3, +4 день. Учитывая частичную совместимость пары донор/реципиент в этой группе, кроме ПТ-ЦФ этим больным проводили терапию АТГ, CsA, ММФ. Третья группа пациентов ($n = 15$) – это больные после гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ -деплецией.

Медиана времени восстановления лейкоцитов составила 20,5 (13–46) дней у пациентов после классического режима иммуносупрессивной терапии. У больных после АТГ+ПТ-ЦФ – 23,5 (17–47) дней, после TCR $\alpha\beta$ -деплеции – 13 (9–26) дней.

Частота гипофункций трансплантата в течение первых 3 месяцев после алло-ТГСК наблюдалась у 8/32 (25%) после классической ИСТ, у 7/18 (38,8%) после АТГ+ПТ-ЦФ и у 3/15 (20%) после TCR $\alpha\beta$ -деплеции. У пациентов на классической ИСТ трехростковая цитопения развилась у 1 больного и была ассоциирована с реактивацией герпес-вируса 6-го типа (HHV-6); лейкопения и тромбоцитопения отмечались у 6 из 8, что было в половине случаев также ассоциировано с реактивацией герпес-вирусной инфекции (CMV, HHV-6). У 3 из 6 пациентов в этой подгруппе в дальнейшем развился рецидив заболевания. У 1 больного на классической ИСТ была диагностирована парциальная красноклеточная аплазия (ПККА).

В группе больных после АТГ+ПТ-ЦФ у 5 была констатирована тяжелая гипофункция трансплантата: лейкопения с развитием агранулоцитоза, анемия и тромбоцитопения с зависимостью от трансфузий. У 4 из 5 ранее была диагностирована герпес-вирусная инфекция (CMV, HHV-6), которая у 3 из них в дальнейшем явилась причиной вторичной несостоятельности трансплантата. У других 2 больных после АТГ+ПТ-ЦФ не было развития вирусной инфекции: у 1 пациента отмечалась рефрактерная к трансфузиям тромбоцитопения, и в дальнейшем – несостоятельность трансплантата, и у 1 больного развилась ПККА.

В группе пациентов после TCR $\alpha\beta$ -деплеции у 1 была констатирована тяжелая гипофункция трансплантата (агранулоцитоз, анемия и тромбоцитопения с зависимостью от трансфузий), которая была ассоциирована с герпес-вирусной инфекцией (EBV, HHV-6). У

других 2 больных в этой группе отмечалась лейкопения с развитием агранулоцитоза и тромбоцитопения с зависимостью от трансфузий тромбоконцентрата, что также было связано с персистенцией HHV-6.

Вторичная несостоятельность трансплантата констатирована у 2/32 (6,25%) больных после классической ИСТ и у 4/18 (22,2%) больных после АТГ+ПТ-ЦФ. В группе больных после TCR $\alpha\beta$ -деплеции не было зафиксировано ни одного случая.

Острая РТПХ II–IV степени развилась у 13/32 (40,6%) пациентов после классической ИСТ. В большинстве случаев ($n = 7$, 53,8%) была диагностирована острая РТПХ с поражением кожи, кишечника II степени. Тяжелая форма острой РТПХ с поражением кишечника отмечена у 4 (30,8%) больных (III степень – у 3, IV степень – 1). У 6 из 13 (46,2%) пациентов с острой РТПХ после классической ИСТ диагностирована стероид-резистентная форма. Нужно отметить, что у 5/13 (38,5%) больных острая РТПХ развилась после предшествующей иммуноадаптивной терапии лимфоцитами донора (ТЛД), которую проводили на сроках + 65 – + 157 дней, по поводу смешанного кроветворения. У 2 из 5 (40%) пациентов после ТЛД была констатирована острая РТПХ с поражением кишечника III степени, резистентная к глюкокортикостероидам.

Нужно отметить, что в группах АТГ+ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -деплеции не было зафиксировано ни одного случая смешанного кроветворения, что не требовало проведения ТЛД.

В группе больных после АТГ+ПТ-ЦФ острая РТПХ была диагностирована у 2 из 18 (11,1%). У 1 пациента после алло-ТГСК от неродственного частично совместимого донора на фоне отмены ИСТ развилась острая РТПХ с поражением кожи III степени на +97 день. У 1 больного после гапло-ТГСК на +22 день диагностирована острая РТПХ с поражением кожи и кишечника III степени, стероид-рефрактерная форма.

В случае выполнения гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ -деплецией острая РТПХ диагностирована у 3 (20%) из 15 пациентов. У всех развилась острая РТПХ с поражением кожи II степени.

Мы проанализировали вероятность развития острой РТПХ в зависимости от проводимой ИСТ: для группы больных после классического режима ИСТ вероятность острой РТПХ составила 38,7%, для группы АТГ+ПТ-ЦФ – 12,5%, для пациентов после TCR $\alpha\beta$ -деплеции – 27,3% (рисунок 5).

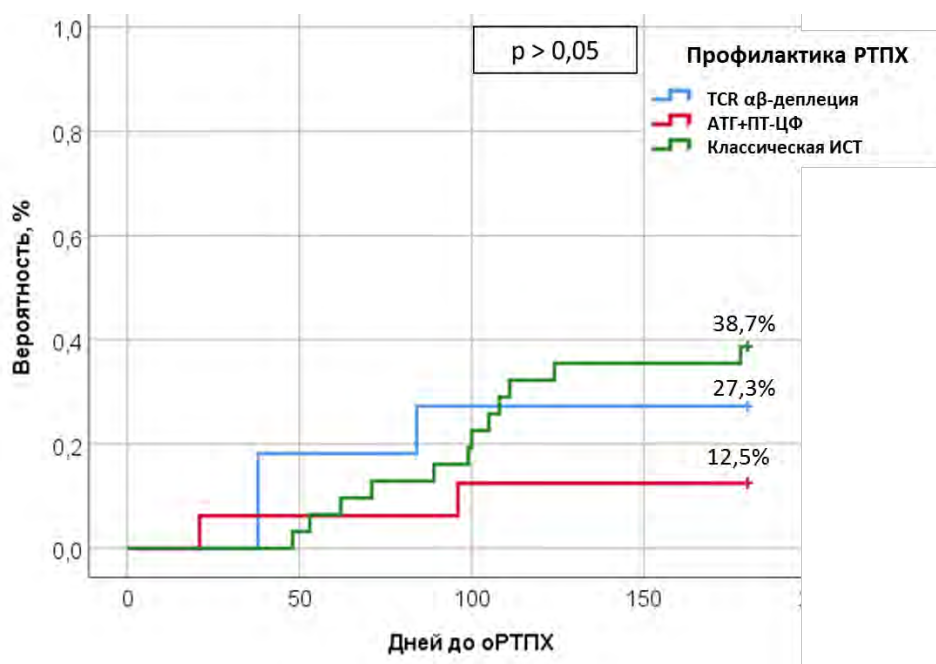


Рисунок 5 – Вероятность развития острой РТПХ в зависимости от режима иммуносупрессивной терапии

Рецидив острого лейкоза диагностирован у 8/32 (25%) больных после классической профилактики острой РТПХ, у 3/18 (16,7%) – после АТГ+ПТ-ЦФ и у 3/15 (20%) – после гаплогенотипирования с TCRαβ-деплецией.

Из 8 пациентов у 6 был диагностирован клиничко-гематологический рецидив острого лейкоза после алло-ТГСК с классическим режимом ИСТ. Медиана времени развития рецидива составила +105 дней (+60 – +240 день). У 1 пациента с ОМЛ с t (15;17) развился молекулярный рецидив через 3 месяца после алло-ТГСК и у 1 – экстрамедуллярный рецидив ОМЛ FLT3⁺ через 9 месяцев после алло-ТГСК.

После терапии АТГ+ПТ-ЦФ у 2 развился клиничко-гематологический рецидив на +11 и +12 месяцев после алло-ТГСК и у 1 – нейрорецидив Ph⁺ ОЛЛ через 2 года после гаплогенотипирования.

У пациентов после гаплогенотипирования с TCRαβ-деплецией был диагностирован клиничко-гематологический рецидив (n = 2) на сроках +10 и +12 месяцев. У 1 больного был диагностирован молекулярный рецидив Ph⁺ ОЛЛ на +2 месяца после гаплогенотипирования.

Мы проанализировали вероятность развития рецидива заболевания в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ: у пациентов после классической ИСТ вероятность рецидива составила 25,8%, в группе АТГ+ПТ-ЦФ – 55,6%, у больных после TCRαβ-деплеции – 37,1% (рисунок 6).

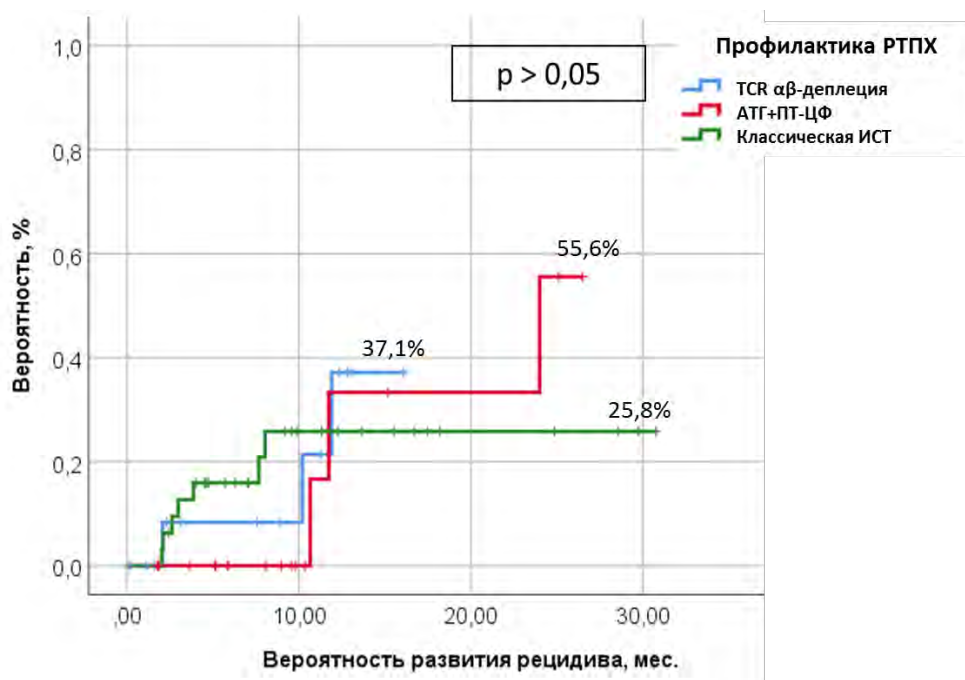


Рисунок 6 – Вероятность развития рецидива острого лейкоза у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

В сравниваемых группах мы также проанализировали ОВ и БРВ. ОВ в течение 30 месяцев составила 48,2% у больных на классической ИСТ, 51,1% у пациентов после АТГ+ПТ-ЦФ и 66,7% после TCRαβ-деплеции (рисунок 7). БРВ в течение 30 месяцев составила 50,3%, 27,3% и 62,9%, соответственно (рисунок 8).

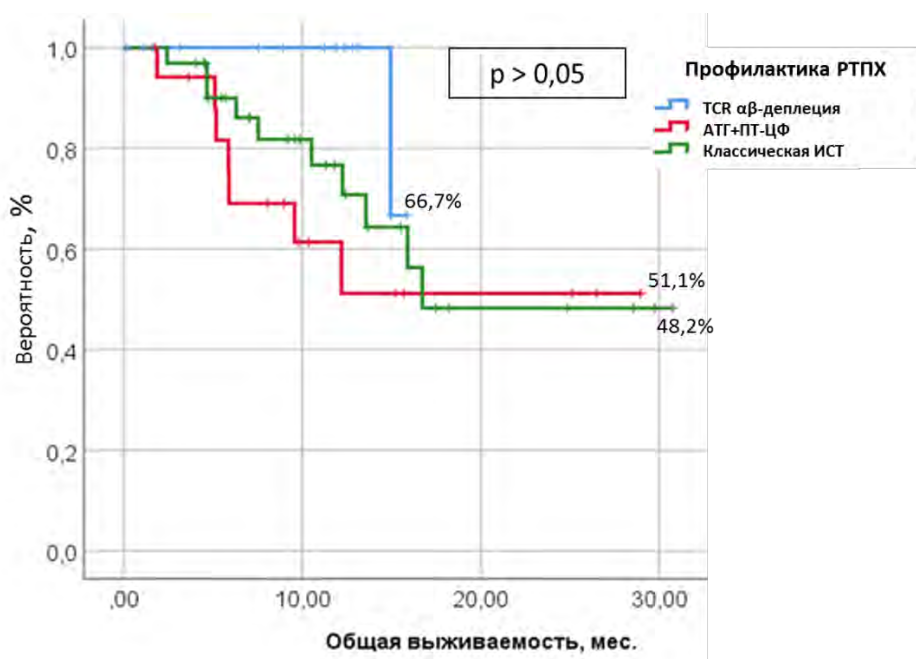


Рисунок 7 – Общая выживаемость больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

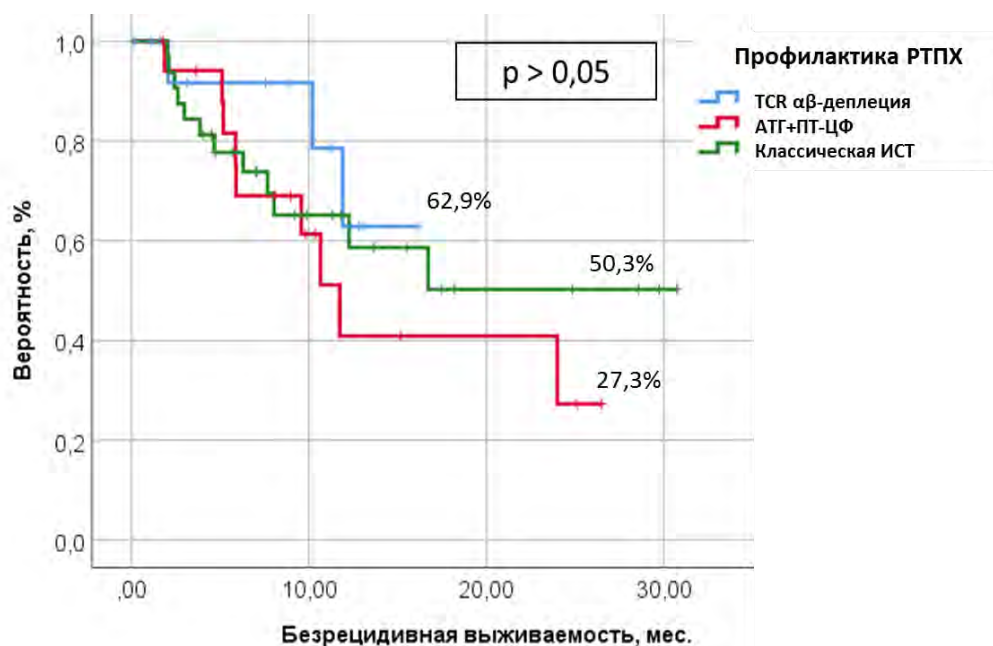


Рисунок 8 – Безрецидивная выживаемость больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

Причинами смерти пациентов после классической ИСТ были: рецидив основного заболевания ($n = 4$), РТПХ ($n = 4$), вторичная несостоятельность трансплантата ($n = 1$), инфекционные осложнения и септический шок ($n = 1$). Больные после АТГ+ПТ-ЦФ умерли в результате несостоятельности трансплантата ($n = 3$), инфекционных осложнений и септического шока ($n = 3$), рецидива острого лейкоза ($n = 1$). В группе TCRαβ-деплеции умерло 2 пациента в результате рецидива заболевания.

Результаты алло-ТГСК у пациентов с острыми лейкозами в зависимости от режима иммуносупрессивной терапии представлены в таблице 8.

Таблица 8. Результаты алло-ТГСК у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

Параметры	Профилактика острой РТПХ		
	Классическая ИСТ ($n = 32$)	АТГ+ПТ-ЦФ ($n = 18$)	TCRαβ-деплеция ($n = 15$)
Медиана времени восстановления лейкоцитов, дни	20,5 (13–46)	23,5 (17–47)	13 (9–26)
Гипофункция трансплантата	8 (25%)	7 (38,8%)	3 (20%)

Ассоциированная с герпес-вирусной инфекцией	4/8 (50%)	4/7 (57,1%)	3/3 (100%)
Вторичная несостоятельность трансплантата	2 (6,25%)	4 (22,2%)	–
Острая РТПХ	13 (40,6%)	2 (11,1%)	3 (20%)
II степени	7/13 (53,8%)	–	3/3 (100%)
III степени	5/13 (38,5%)	2/2(100%)	–
IV степени	1/13 (7,7%)	–	–
Стероид-резистентная форма острой РТПХ	6/13 (46,2%)	1/2 (50%)	–
Рецидив	8 (25%)	3 (16,7%)	3 (20%)
Смерть	10 (31,25%)	7 (38,9%)	2 (13,3%)

3.3 Исследование различных субпопуляций Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга у здоровых доноров

В качестве контроля для последующей количественной оценки Т-клеток исследуемых нами субпопуляций ($CD4^+$, $CD8^+$ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte) у больных после алло-ТГСК мы определили количественный состав этих субпопуляций в периферической крови и костном мозге в условиях физиологической нормы – у здоровых доноров. Также мы определили долю Т-клеток, экспрессирующих PD-1, в каждой субпопуляции.

Результаты приведены в таблицах 9 и 10.

Таблица 9. Количество Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга у здоровых доноров

Локализация	Субпопуляция Т-клеток		Количество клеток, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)
Костный мозг, %	$CD4^+$	Tnv+scm	35,8 (27,87–43,39)
		Tcm	11,3 (9,94–11,76)
		Ttm	31,09 (27,31–43)
		Tem	1,75 (0,57–2,92)
		Tte	0,67 (0,39–1,06)

	CD8 ⁺	Tnv+scm	32,58 (19,46–36,8)
		Tcm	1,95 (0,77–2,54)
		Ttm	25,18 (22,26–29,04)
		Tem	14,52 (10,24–16,91)
		Tte	13,69 (10,95–20,25)
Периферическая кровь, кл/мкл	CD4 ⁺	Tnv+scm	372,21 (206,66–595,82)
		Tcm	157,45 (80,92–193,89)
		Ttm	331,45 (151,93–398,54)
		Tem	5,83 (3,25–15,13)
		Tte	1,25 (0,88–3,0)
	CD8 ⁺	Tnv+scm	155,46 (69,72–301,09)
		Tcm	9,53 (3,17–15,35)
		Ttm	106,86 (58,25–123,84)
		Tem	38,03 (25,22–78,35)
		Tte	67,67 (41,19–94,22)

Таблица 10. Доля PD-1⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга у здоровых доноров

Локализация	Субпопуляция Т-клеток, экспрессирующих PD-1	Доля клеток, % медиана (процентиль 25 – процентиль 75)	
Костный мозг	CD4 ⁺	Tnv+scm	0,57 (0,17–0,93)
		Tcm	24,6 (18,89–35,94)
		Ttm	51,04 (41,75–58,7)
		Tem	74,96 (42,86–78,57)
		Tte	1,06 (0–5,66)
	CD8 ⁺	Tnv+scm	1,77 (1,22–2,32)
		Tcm	63,07 (58,37–70,37)
		Ttm	74,58 (71,79–82,14)
		Tem	51,99 (47,68–59,76)
		Tte	35,16 (30,6–41,92)

Периферическая кровь	CD4 ⁺	Tnv+scm	0,6 (0,4–0,81)
		Tcm	19,15 (16,4–24,22)
		Ttm	38,42 (34,32–46,17)
		Tem	66,85 (27,46–79,95)
		Tte	3,3 (0–7,14)
	CD8 ⁺	Tnv+scm	0,56 (0,28–1,01)
		Tcm	33,54 (22,95–40,36)
		Ttm	53,65 (43,44–63,44)
		Tem	41,25 (37,63–48,86)
		Tte	16,17 (12,72–20,65)

3.4 Реконституция Т-клеток памяти у пациентов после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

В исследование реконституции Т-клеток памяти различных субпопуляций всего было включено 65 больных. Из исследования исключали пациентов, если у них было констатировано отторжение трансплантата, развивался рецидив острого лейкоза или смерть. Количество пациентов, включенных в исследование, которым проводили анализ субпопуляций Т-клеток памяти на всех сроках, приведено в таблице 11.

Таблица 11. Число пациентов, которым проводили исследование субпопуляций Т-клеток памяти в контрольные сроки после алло-ТГСК.

Количество больных	День после алло-ТГСК			
	+30	+60	+90	+180
Количество пациентов с отторжением трансплантата	–	3	5	5
Количество пациентов с рецидивом острого лейкоза	–	–	2	4
Смерть	–	–	2	3
Общее количество пациентов, исключенных из исследования	–	3	9	12
Количество пациентов, включенных в исследование реконституции Т-клеток	65	62	56	53

На +30, +60, +90, +180 день после алло-ТГСК мы оценивали абсолютное и относительное количество CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток различных субпопуляций Т-клеток памяти (Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte) периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами. Учитывая потенциальное влияние проводимой иммуносупрессивной терапии на восстановление Т-клеточного звена после алло-ТГСК, мы сравнили количество Т-клеток исследуемых популяций периферической крови и костного мозга у больных в контрольные сроки в зависимости от режима профилактики острой РТПХ. Результаты суммированы в таблицах 13 и 14.

Таблица 13. Количество CD4⁺ Т-клеток различных субпопуляций периферической крови и костного мозга у больных после алло-ТГСК в зависимости от режима профилактики острой РТПХ

День после алло-ТГСК	Локализация	Субпопуляция CD4 ⁺ Т-клеток	Количество клеток, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)			Значение р
			Классическая ИСТ с использованием АТГ	АТГ+ПТ-ЦФ	TCR αβ-деплеция	
+30	Периферическая кровь, кл/мкл	CD4 ⁺	111,88 (56,29-194,45)	22,89 (13,45-47,64)	14,29 (5,34-16,70)	0,0001
		Tnv+scm	19,19 (5,47-55,00)	0,73 (0,25-2,87)	0,26 (0,08-0,34)	0,0001
		Tcm	23,27 (6,67-50,99)	5,43 (1,81-11,62)	5,03 (1,01-6,00)	0,002
		Ttm	46,65 (28,81-76,17)	10,46 (6,30-26,62)	7,36 (3,71-10,54)	0,0001
		Tem	1,23 (0,91-2,25)	0,28 (0,15-4,28)	0,08 (0,03-0,14)	0,0001
		Tte	1,12 (0,37-1,94)	0,26 (0,04-0,60)	0,13 (0,03-0,38)	0,001
	Костный мозг, %	Tnv+scm	15,04 (9,09-25,48)	5,06 (2,54-10,49)	2,56 (1,72-4,62)	0,0001
		Tcm	16,06 (10,46-22,32)	19,58 (8,02-27,06)	10,34 (6,67-17,02)	0,390
		Ttm	52,74 (42,45-60,91)	51,24 (44,89-57,14)	67,32 (60,00-75,53)	0,019
		Tem	2,22 (1,55-4,41)	3,01 (1,52-10,77)	2,13 (1,08-4,55)	0,311
		Tte	1,25 (0,77-3,14)	2,51 (1,03-5,49)	5,49 (0,22-10,64)	0,599
+60	Периферическая кровь, кл/мкл	CD4 ⁺	82,84 (57,58-227,82)	54,85 (45,74-84,92)	37,05 (15,92-197,18)	0,111
		Tnv+scm	16,24 (3,59-30,13)	2,92 (0,68-9,43)	0,73 (0,27-1,29)	0,001
		Tcm	17,38 (9,18-36,81)	17,16 (9,90-24,63)	8,17 (4,95-15,53)	0,178
		Ttm	44,55 (29,86-81,89)	31,61 (23,86-41,14)	22,74 (8,69-53,42)	0,039
		Tem	1,62 (0,86-8,33)	0,99 (0,27-3,38)	0,82 (0,18-55,71)	0,555
		Tte	0,46 (0,21-0,77)	0,13 (0,05-0,72)	0,23 (0,08-1,62)	0,329
	Костный мозг, %	Tnv+scm	12,31 (6,99-18,87)	7,51 (1,52-11,91)	2,69 (0,60-5,24)	0,0001
		Tcm	13,19 (8,00-16,25)	16,15 (7,41-19,79)	12,13 (7,86-20,09)	0,853
		Ttm	58,94 (47,20-63,96)	51,08 (46,41-59,79)	63,95 (40,61-72,00)	0,512
		Tem	2,79 (1,71-7,32)	5,27 (0,78-12,15)	8,00 (1,94-21,49)	0,343
		Tte	1,32 (0,35-1,95)	0,81 (0,76-1,57)	1,78 (0,99-7,62)	0,198

+90	Периферическая кровь, кл/мкл	CD4 ⁺	184,64 (101,37-290,21)	55,51 (37,53-125,59)	62,44 (41,46-146,75)	0,019
		Tnv+scm	18,68 (6,95-45,89)	1,83 (1,25-3,37)	0,70 (0,32-4,76)	0,002
		Tcm	39,26 (18,92-52,98)	12,09 (6,21-36,04)	10,54 (1,05-16,82)	0,007
		Ttm	76,13 (47,28-159,32)	30,15 (26,39-62,52)	26,24 (19,51-49,66)	0,004
		Tem	7,57 (1,82-15,91)	2,49 (0,86-4,93)	3,8 (1,22-20,00)	0,230
		Tte	0,47 (0,22-1,59)	0,21 (0,08-0,45)	0,66 (0,06-5,35)	0,153
	Костный мозг, %	Tnv+scm	10,52 (6,10-24,30)	3,94 (1,43-6,72)	1,64 (0,85-3,73)	0,005
		Tcm	12,00 (7,29-19,38)	14,51 (8,98-20,54)	11,48 (5,05-17,91)	0,611
		Ttm	53,43 (44,98-72,02)	65,78 (61,23-71,45)	59,51 (47,38-71,19)	0,565
		Tem	3,65 (2,03-13,29)	3,12 (2,67-10,49)	9,76 (6,12-27,24)	0,074
Tte		0,61 (0,16-1,73)	1,33 (0,61-3,38)	1,86 (0,90-3,40)	0,057	
+180	Периферическая кровь, кл/мкл	CD4 ⁺	255,19 (166,41-319,97)	141,49 (102,91-182,60)	183,80 (73,62-266,40)	0,105
		Tnv+scm	23,56 (6,76-45,14)	4,42 (2,58-9,31)	13,53 (4,78-75,13)	0,060
		Tcm	46,99 (24,23-62,66)	18,55 (14,80-27,00)	37,18 (17,15-44,94)	0,082
		Ttm	121,24 (97,19-164,90)	87,96 (69,43-148,19)	82,43 (45,24-87,57)	0,022
		Tem	11,38 (3,85-42,73)	3,46 (1,20-17,57)	4,86 (1,97-27,80)	0,455
		Tte	1,14 (0,38-4,04)	0,66 (0,17-1,35)	1,13 (0,29-5,31)	0,433
	Костный мозг, %	Tnv+scm	6,48 (3,32-14,62)	2,95 (1,40-8,55)	8,89 (4,90-34,71)	0,127
		Tcm	12,79 (6,72-16,99)	11,78 (9,32-14,00)	10,88 (7,35-16,25)	0,978
		Ttm	63,17 (44,18-70,16)	69,32 (61,97-75,26)	49,18 (36,98-56,83)	0,011
		Tem	5,91 (3,16-13,32)	5,40 (1,53-15,71)	6,35 (4,08-15,82)	0,647
Tte		1,33 (0,80-2,77)	0,47 (0,30-1,18)	1,79 (1,03-3,75)	0,046	

Таблица 14. Количество CD8⁺ Т-клеток различных субпопуляций периферической крови и костного мозга у больных после алло-ТГСК в зависимости от режима профилактики острой РТПХ

День после алло- ТГСК	Локализация	Субпопуляция CD8 ⁺ Т-клеток	Количество клеток, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)			Значение р
			Классический режим с использованием АТГ	АТГ+ПТ-ЦФ	TCR αβ-деплегация	
+30	Периферическая кровь, кл/мкл	CD8 ⁺	51,20 (15,38-126,67)	26,76 (8,23-44,21)	3,12 (1,78-16,10)	0,001
		Tnv+scm	4,45 (1,62-7,00)	0,35 (0,11-0,57)	0,06 (0,04-0,15)	0,0001
		Tcm	0,76 (0,27-1,75)	0,22 (0,17-0,30)	0,12 (0,01-0,34)	0,001
		Ttm	14,25 (5,4-32,99)	8,73 (2,88-14,06)	1,0 (0,56-8,23)	0,001
		Tem	7,96 (2,03-39,58)	5,84 (0,77-14,58)	0,73 (0,41-5,23)	0,025
		Tte	9,46 (3,86-37,4)	3,62 (0,52-14,1)	0,71 (0,25-0,9)	0,0001
	Костный мозг, %	Tnv+scm	4,99 (3,32-11,68)	1,24 (0,75-4,16)	5,27 (1,14-9,09)	0,007
		Tcm	1,62 (0,68-3,01)	1,01 (0,77-1,69)	2,39 (0,91-4,76)	0,342
		Ttm	33,50 (29,47-39,65)	60,80 (27,15-70,71)	43,26 (26,30-60,12)	0,021

		Tem	21,01 (13,24-28,77)	20,47 (10,83-25,37)	36,96 (23,95-54,09)	0,038
		Tte	21,62 (17,35-32,12)	11,87 (4,14-18,08)	11,81 (8,63-20,00)	0,003
+60	Периферическая кровь, кл/мкл	CD8 ⁺	99,54 (31,55-331,97)	71,56 (27,36-206,61)	27,15 (5,42-169,43)	0,153
		Tnv+scm	3,06 (1,86-5,73)	1,7 (0,84-3,83)	0,12 (0,03-0,22)	0,0001
		Tcm	0,99 (0,36-2,04)	0,78 (0,42-1,57)	0,11 (0,05-0,35)	0,001
		Ttm	20,87 (9,05-50,79)	13,52 (9,75-83,61)	4,77 (1,55-8,87)	0,006
		Tem	40,62 (9,51-133,23)	16,98 (3,4-88,29)	14,12 (1,43-135,30)	0,499
		Tte	23,96 (5,09-117,75)	15,52 (5,13-28,78)	7,37 (2,07-18,36)	0,122
	Костный мозг, %	Tnv+scm	3,04 (1,11-6,80)	5,89 (1,85-12,00)	1,03 (0,49-2,78)	0,026
		Tcm	1,26 (0,27-2,09)	1,35 (0,66-2,52)	1,24 (0,60-1,54)	0,672
		Ttm	27,80 (15,57-37,75)	31,19 (23,20-43,58)	24,17 (17,38-52,08)	0,647
		Tem	28,68 (16,31-43,44)	25,63 (16,87-34,62)	36,54 (22,92-60,93)	0,302
Tte		20,51 (13,97-33,26)	16,26 (5,84-22,37)	19,89 (9,03-30,16)	0,437	
+90	Периферическая кровь, кл/мкл	CD8 ⁺	258,03 (185,71-684,00)	127,36 (25,47-507,58)	33,53 (23,20-104,10)	0,002
		Tnv+scm	4,56 (2,99-12,04)	2,11 (1,27-3,7)	0,34 (0,04-0,7)	0,0001
		Tcm	2,36 (0,72-5,74)	0,34 (0,15-4,36)	0,17 (0,05-0,81)	0,002
		Ttm	51,60 (36,32-115,87)	22,25 (6,88-179,53)	3,97 (0,44-8,78)	0,0001
		Tem	143,83 (33,19-275,20)	25,20 (4,64-215,07)	18,67 (5,36-65,04)	0,055
		Tte	78,10 (28,92-219,92)	48,93 (7,46-74,60)	8,66 (4,08-27,68)	0,002
	Костный мозг, %	Tnv+scm	1,91 (1,01-5,66)	0,94 (0,62-4,62)	0,94 (0,29-3,50)	0,171
		Tcm	0,92 (0,31-1,78)	1,54 (0,62-3,09)	0,90 (0,50-1,26)	0,437
		Ttm	31,61 (16,70-36,77)	38,33 (24,40-41,15)	23,61 (16,48-31,76)	0,202
		Tem	30,83 (21,81-49,28)	24,17 (13,69-44,50)	44,49 (26,29-55,00)	0,178
Tte		16,27 (10,39-28,90)	13,06 (6,92-18,45)	16,99 (13,43-28,07)	0,436	
+180	Периферическая кровь, кл/мкл	CD8 ⁺	586,27 (360,56-922,28)	237,38 (99,90-484,39)	88,26 (67,23-198,27)	0,001
		Tnv+scm	10,76 (4,5-19,12)	6,73 (1,88-8,11)	4,79 (1,58-33,52)	0,273
		Tcm	3,07 (1,16-5,73)	0,74 (0,62-1,63)	1,41 (0,27-2,49)	0,129
		Ttm	83,85 (49,58-115,97)	37,40 (22,58-153,61)	21,01 (6,43-25,86)	0,0001
		Tem	264,67 (160,78-369,76)	81,59 (31,46-108,40)	47,66 (13,07-105,16)	0,008
		Tte	152,27 (55,59-307,35)	50,98 (25,35-158,40)	14,32 (10,62-42,93)	0,005
	Костный мозг, %	Tnv+scm	1,63 (1,03-2,87)	2,24 (0,44-5,22)	3,10 (1,55-8,00)	0,327
		Tcm	0,78 (0,42-1,08)	0,52 (0,32-0,80)	0,42 (0,38-1,21)	0,643
		Ttm	21,79 (17,11-25,95)	29,67 (22,62-32,65)	23,03 (9,85-29,01)	0,230
		Tem	37,19 (29,61-45,46)	30,49 (20,93-40,89)	40,83 (28,97-66,40)	0,377
Tte		21,69 (14,44-28,46)	19,13 (13,87-39,55)	16,11 (14,71-21,50)	0,524	

3.4.1 Реконституция CD4⁺ Т-клеток периферической крови у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60, +90 день) абсолютное количество CD4⁺ Т-клеток периферической крови у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ значительно различалось ($p = 0,0001$, $p = 0,001$ и $p = 0,002$, соответственно). Как видно из рисунка 9, на ранних сроках после алло-ТГСК количество CD4⁺ Т-клеток в периферической крови пациентов было значительно меньше после альтернативных режимов профилактики (АТГ+ПТ-ЦФ, TCR $\alpha\beta$ -деплеции) в сравнении с классической ИСТ ($p < 0,05$). На +180 день количество CD4⁺ Т-клеток достоверно не отличалось ($p = 0,060$).

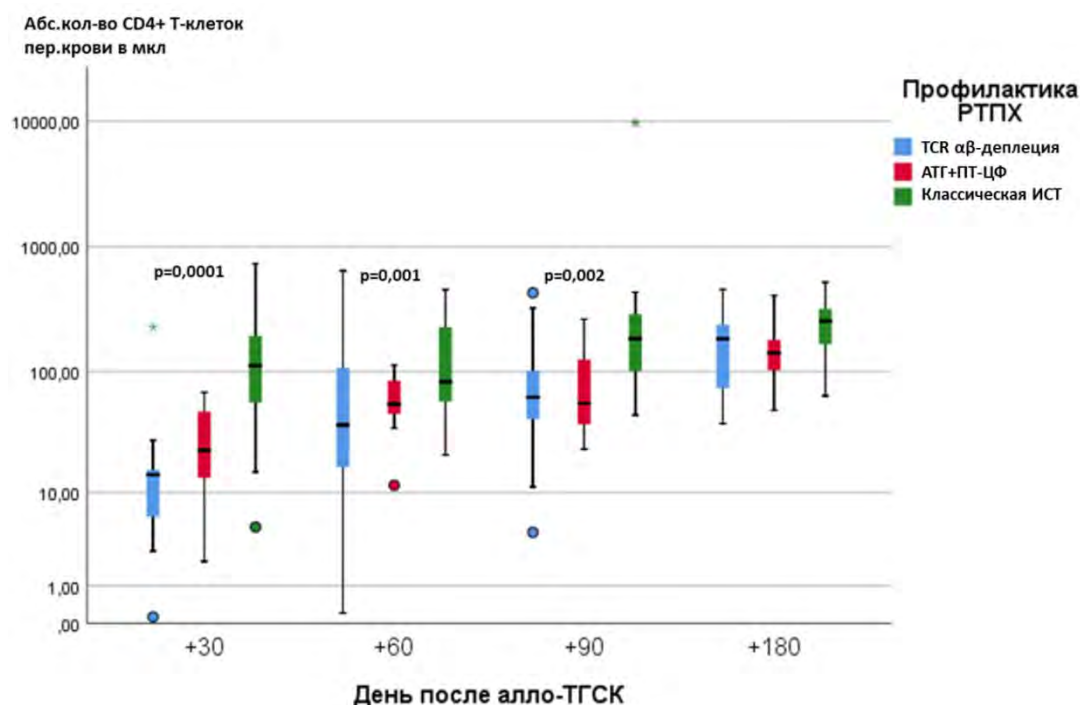


Рисунок 9 – Реконституция CD4⁺ Т-клеток периферической крови после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.4.2 Реконституция CD4⁺ Т-наивных и стволовых клеток памяти (T_{nv}+scm) у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60, +90 дни) количество CD4⁺ T_{nv}+scm периферической крови и костного мозга было значительно меньше у больных после

альтернативных режимов ИСТ (АТГ+ПТ-ЦФ, TCR $\alpha\beta$ -деплекции) в сравнении с классическим режимом ($p < 0,05$). На +180 день количество клеток CD4⁺ Tnv+scm в периферической крови и костном мозге достоверно не отличалось в зависимости от режима профилактики острой РТПХ (рисунок 10).

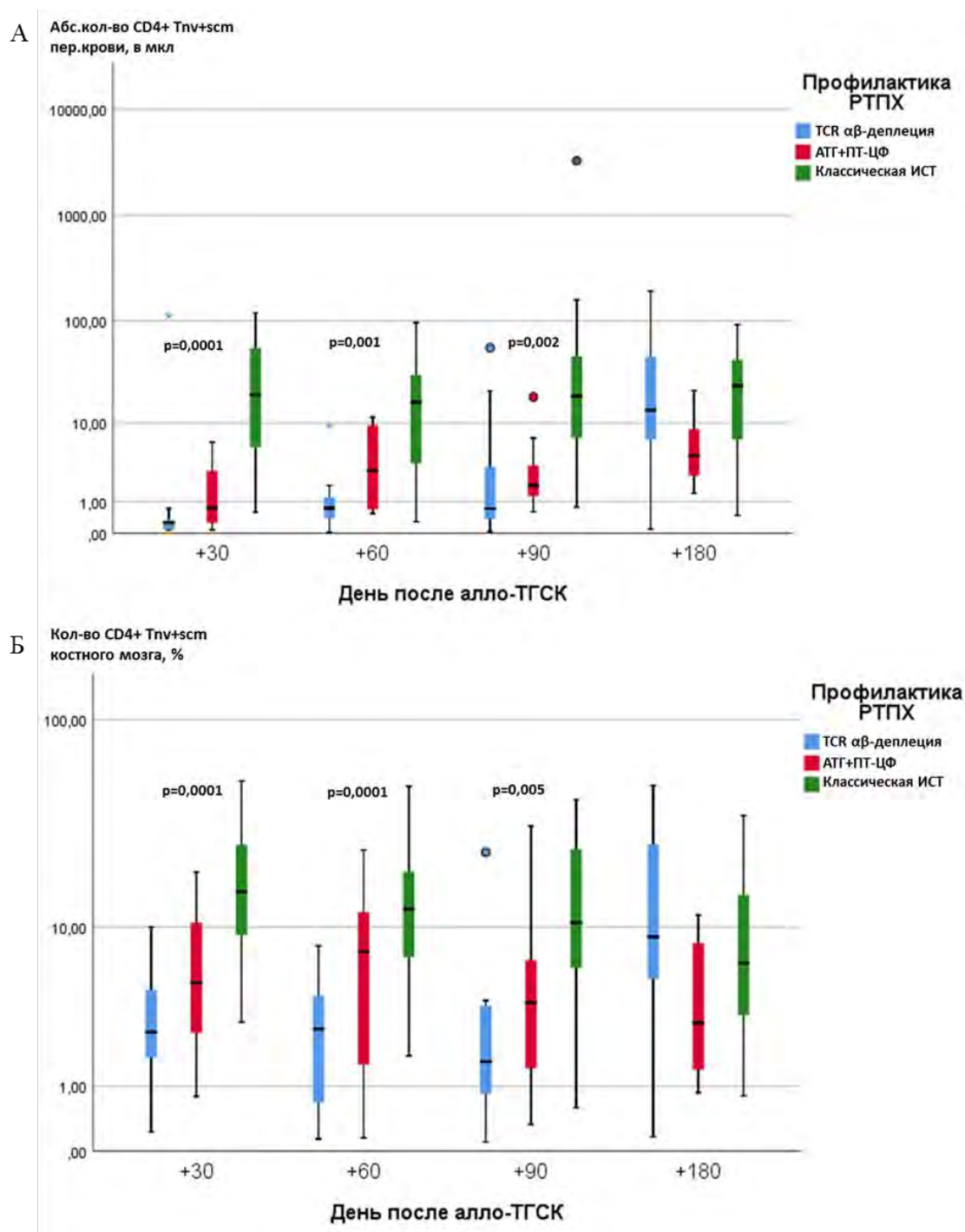


Рисунок 10 – Реконституция CD4⁺ Tnv+scm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – восстановление CD4⁺ Tnv+scm в периферической крови, Б – восстановление CD4⁺ Tnv+scm костного мозга

3.4.3 Реконституция CD4⁺ Т-клеток центральной памяти (Тсm) у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На +30 и +90 дни абсолютное количество CD4⁺ Тсm периферической крови после различных режимов профилактики острой РТПХ достоверно различалось ($p = 0,002$ и $p = 0,007$): количество CD4⁺ Тсm было больше после классической ИСТ в сравнении с альтернативными режимами профилактики острой РТПХ. На +60 и +180 дни количество CD4⁺ Тсm в периферической крови больных значимо не отличалось (рисунок 11, А). Восстановление CD4⁺ Тсm в костном мозге пациентов достоверно не отличалось после используемых режимов ИСТ (рисунок 11, Б).

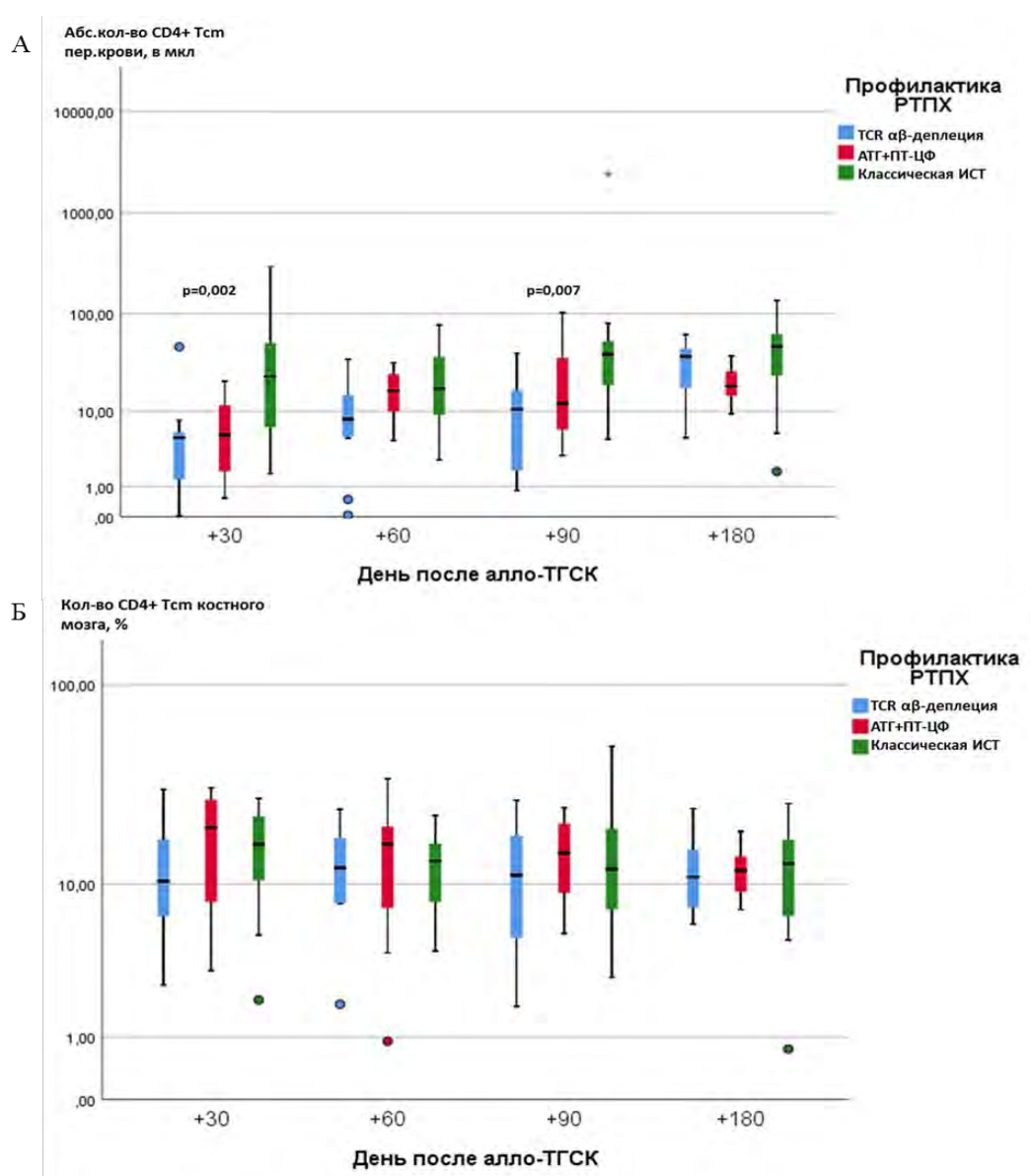


Рисунок 11 – Реконституция CD4⁺ Тсm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD4⁺ Тсm в периферической крови, Б – реконституция CD4⁺ Тсm костного мозга

3.4.4 Реконституция CD4⁺ Т-клеток транзиторной памяти (T_{tm}) у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На всех сроках исследования (+30, +60, +90, +180 дни) абсолютное количество CD4⁺ T_{tm} периферической крови у пациентов после классической ИСТ, АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеции достоверно различалось ($p < 0,05$), и было значимо больше у больных после классической ИСТ (рисунок 12, А). На +30 и +180 день количество CD4⁺ T_{tm} костного мозга значимо отличалось ($p = 0,019$ и $p = 0,01$, соответственно). Однако, не смотря на полученные статистические различия, значительных отличий восстановления субпопуляции CD4⁺ T_{tm} костного мозга в зависимости от режима ИСТ, по нашему мнению, нет (рисунок 12, Б).

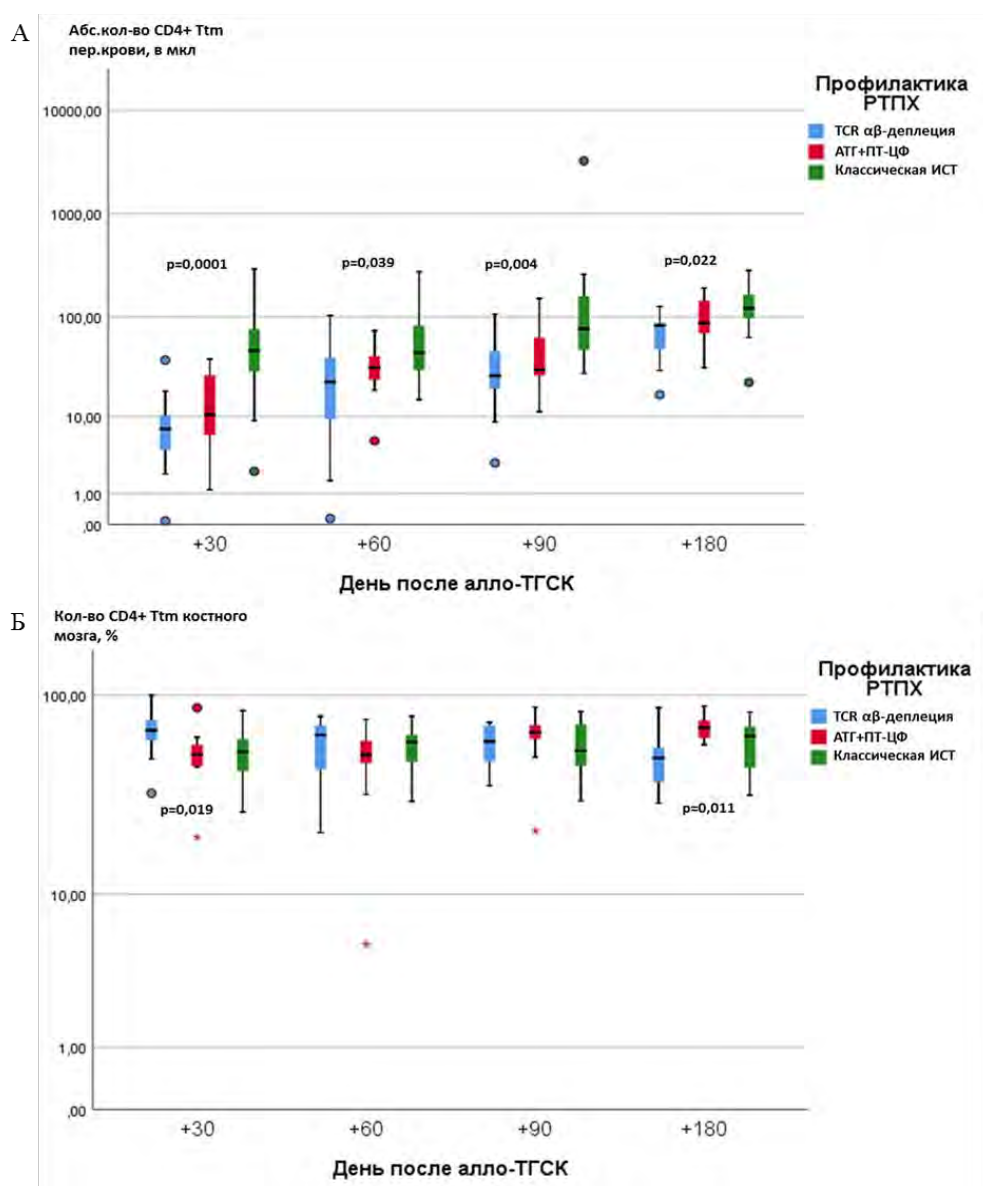


Рисунок 12 – Реконституция CD4⁺ T_{tm} у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD4⁺ T_{tm} периферической крови, Б – реконституция CD4⁺ T_{tm} костного мозга

3.4.5 Реконституция CD4⁺ Т-клеток эффекторной памяти (Tem) у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На +30 день абсолютное количество CD4⁺ Tem периферической крови достоверно различалось у пациентов после используемых нами различных режимов ИСТ ($p = 0,0001$). Как видно из рисунка 13 А количество CD4⁺ Tem было значимо меньше у пациентов после TCR $\alpha\beta$ -деплеции в сравнении с АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ. На остальных сроках (+60, +90, +180 дни) восстановление CD4⁺ Tem периферической крови достоверно не отличалось в зависимости от режима профилактики острой РТПХ. Восстановление CD4⁺ Tem костного мозга значимо не отличалось (рисунок 13, Б).

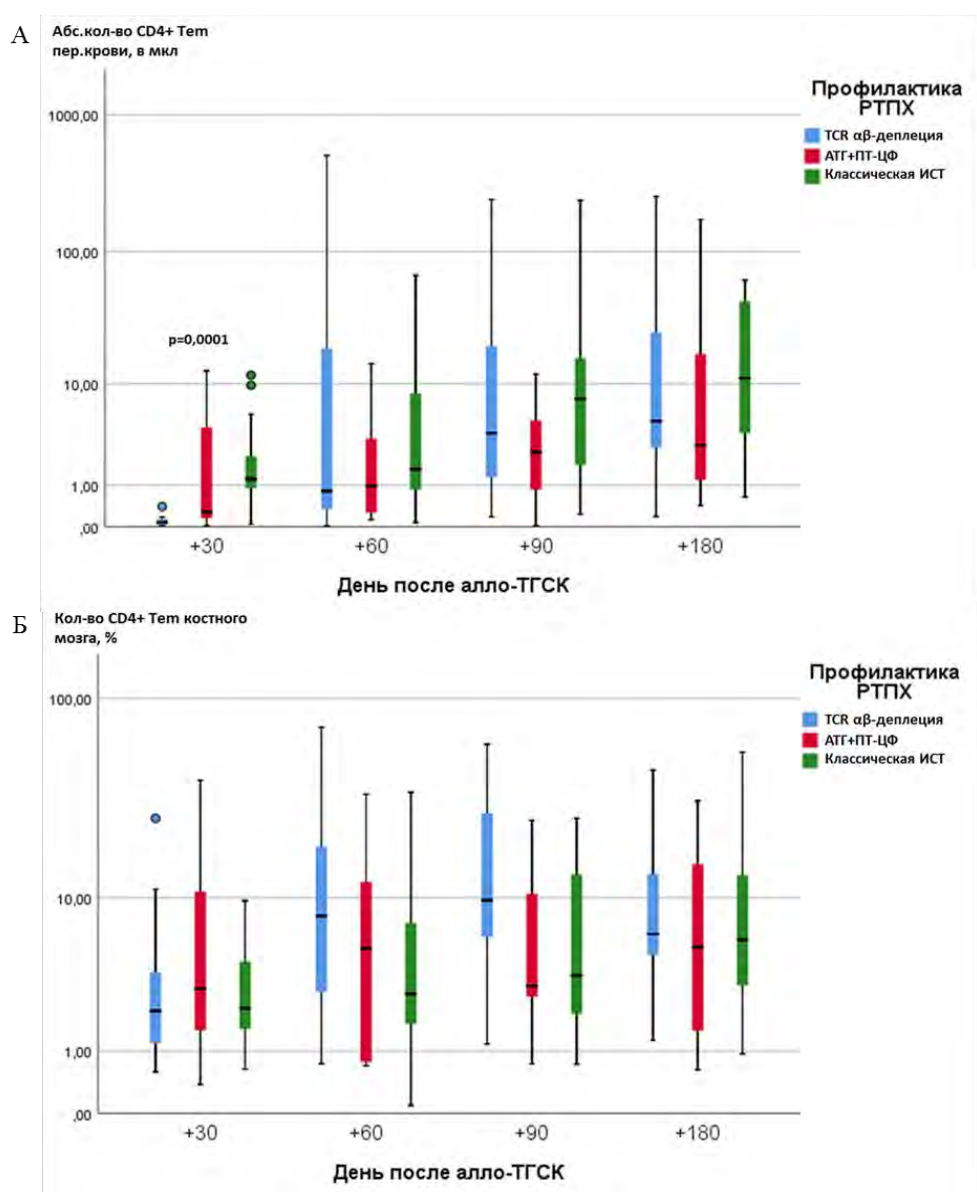


Рисунок 13 – Реконституция CD4⁺ Tem у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD4⁺ Tem периферической крови, Б – реконституция CD4⁺ Tem костного мозга

3.4.6 Реконституция CD4⁺ Т-клеток терминальных эффекторов (Tte) у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На +30 день абсолютное количество CD4⁺ Tte периферической крови значительно различалось у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ ($p = 0,001$). После классической ИСТ абсолютное количество CD4⁺ Tte было значительно больше в сравнении с альтернативными режимами. На +60, +90, +180 день реконституция CD4⁺ Tte периферической крови достоверно не отличалась (рисунок 14, А). На +180 день количество CD4⁺ Tte костного мозга было значительно меньше у пациентов после АТГ+ПТ-ЦФ в сравнении с классической ИСТ и TCR $\alpha\beta$ -деплецией (рисунок 14, Б).

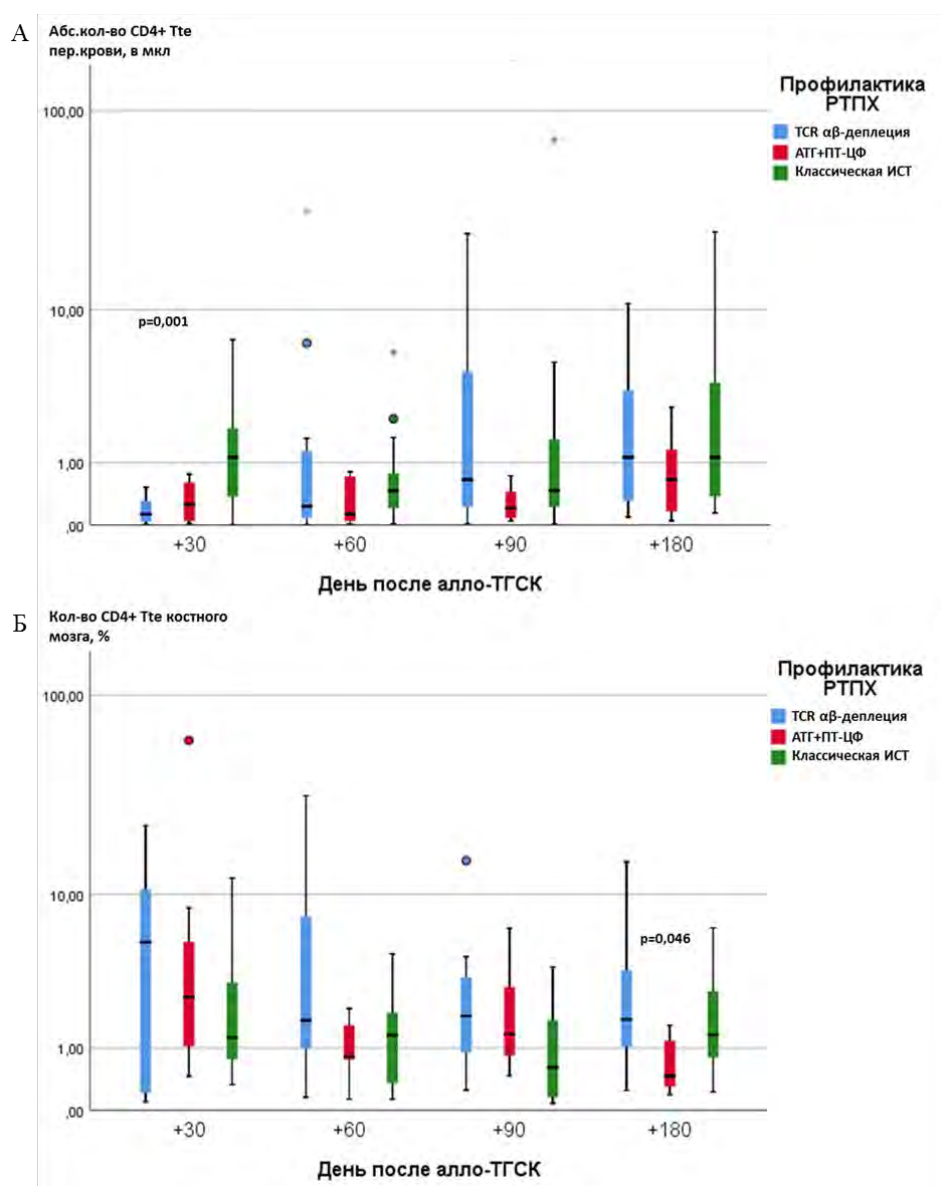


Рисунок 14 – Реконституция CD4⁺ Tte у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD4⁺ Tte периферической крови, Б – реконституция CD4⁺ Tte костного мозга

3.4.7 Реконституция CD8⁺ Т-клеток периферической крови у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На +30, +90, +180 дни абсолютное количество CD8⁺ Т-клеток периферической крови у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ значительно различалось ($p = 0,001$, $p = 0,002$, $p = 0,001$, соответственно) – абсолютное количество CD8⁺ Т-клеток у больных после классической ИСТ было значимо больше по сравнению с АТГ+ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -деплецией (рисунок 15).

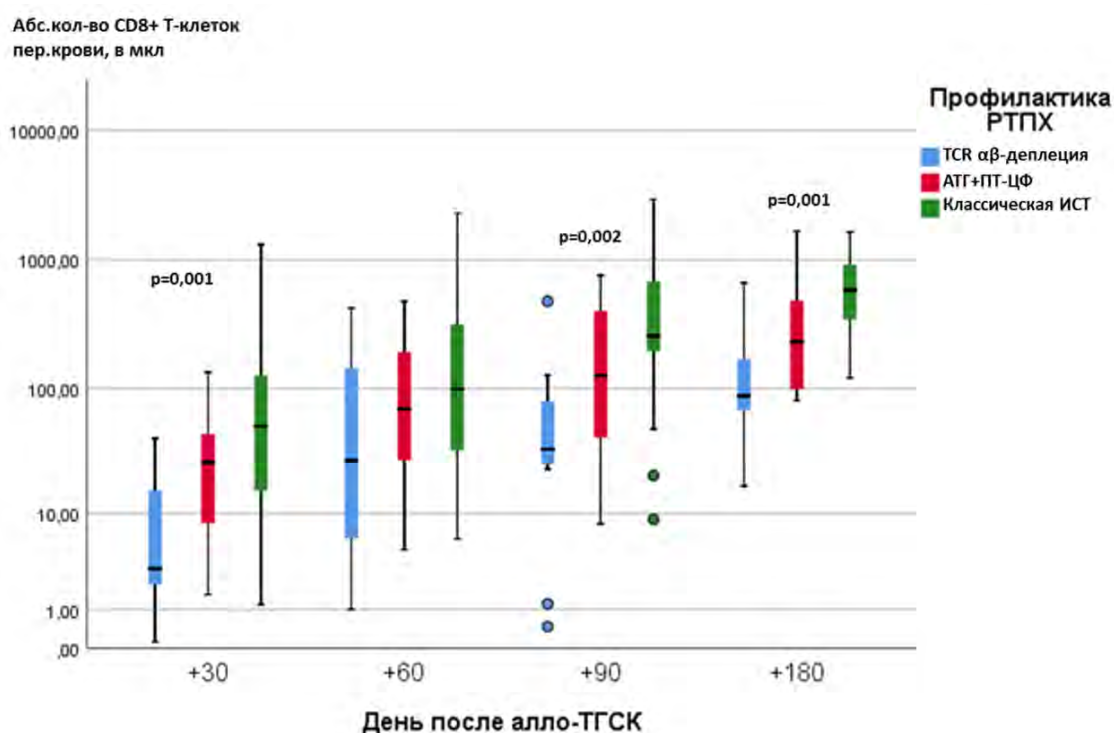


Рисунок 15 – Реконституция CD8⁺ Т-клеток периферической крови у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.4.8 Реконституция CD8⁺ Tnv+scm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60, +90 дни) абсолютное количество CD8⁺ Tnv+scm периферической крови было значимо больше после классической ИСТ в сравнении с альтернативными режимами – АТГ+ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -деплеции ($p < 0,05$). На +30 и +60 дни количество CD8⁺ Tnv+scm костного мозга достоверно отличалось в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ: количество CD8⁺ Tnv+scm было значимо меньше после

альтернативных режимов в сравнении с классической ИСТ ($p = 0,007$ и $p = 0,026$, соответственно). Реконституция $CD8^+$ Tnv+scm в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ показана на рисунке 16.

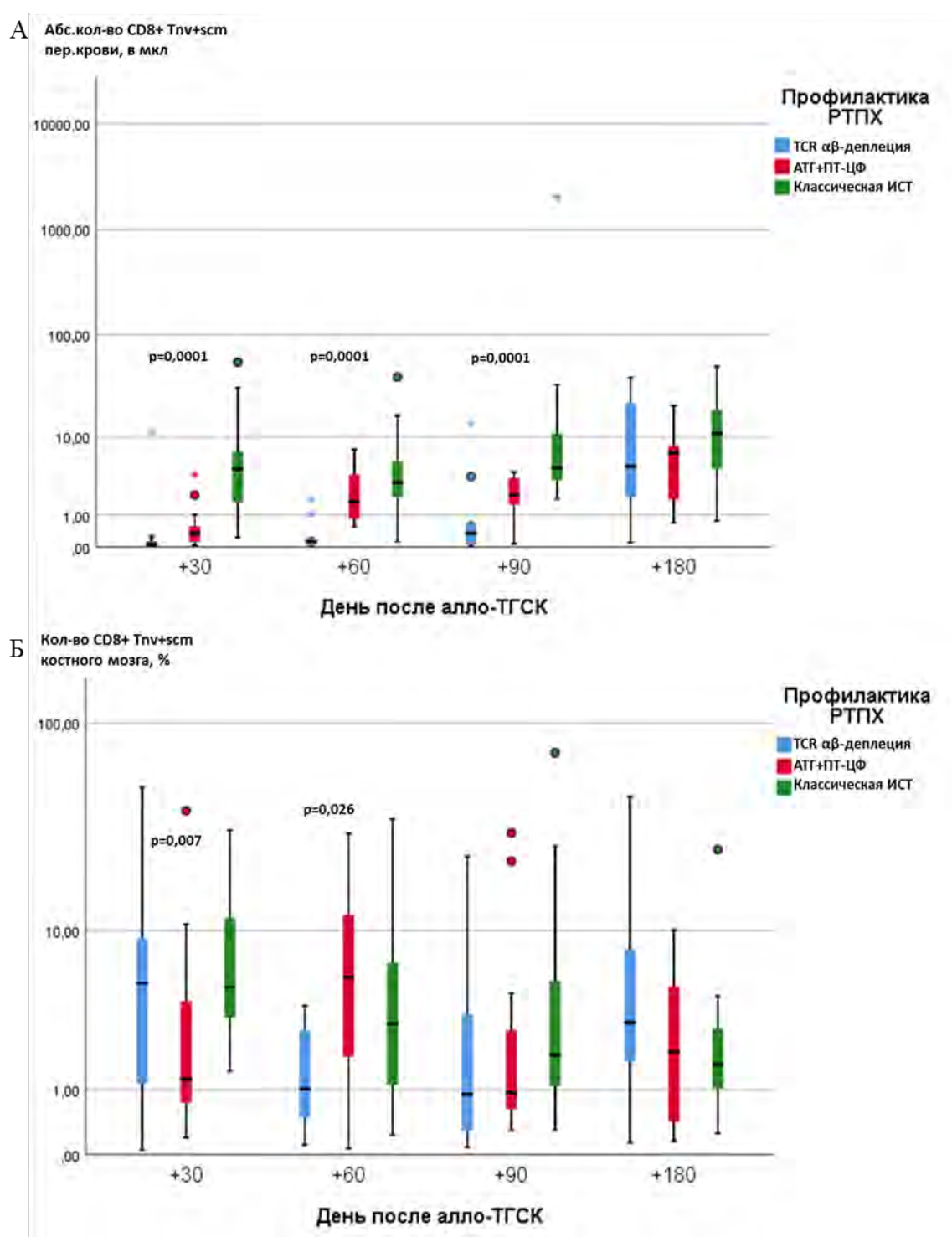


Рисунок 16 – Реконституция $CD8^+$ Tnv+scm у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – реконституция $CD8^+$ Tnv+scm периферической крови, Б – реконституция $CD8^+$ Tnv+scm костного мозга

3.4.9 Реконституция CD8⁺ Тсм у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На +30, +60, +90 дни абсолютное количество CD8⁺ Тсм периферической крови после классической ИСТ было значимо больше в сравнении с альтернативными режимами профилактики – АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплецией ($p < 0,05$). На +180 день восстановление CD8⁺ Тсм периферической крови значимо не отличалось у пациентов после различных режимов ИСТ (рисунок 17, А). Реконституция CD8⁺ Тсм костного мозга достоверно не отличалась на всех сроках исследования (рисунок 17, Б).

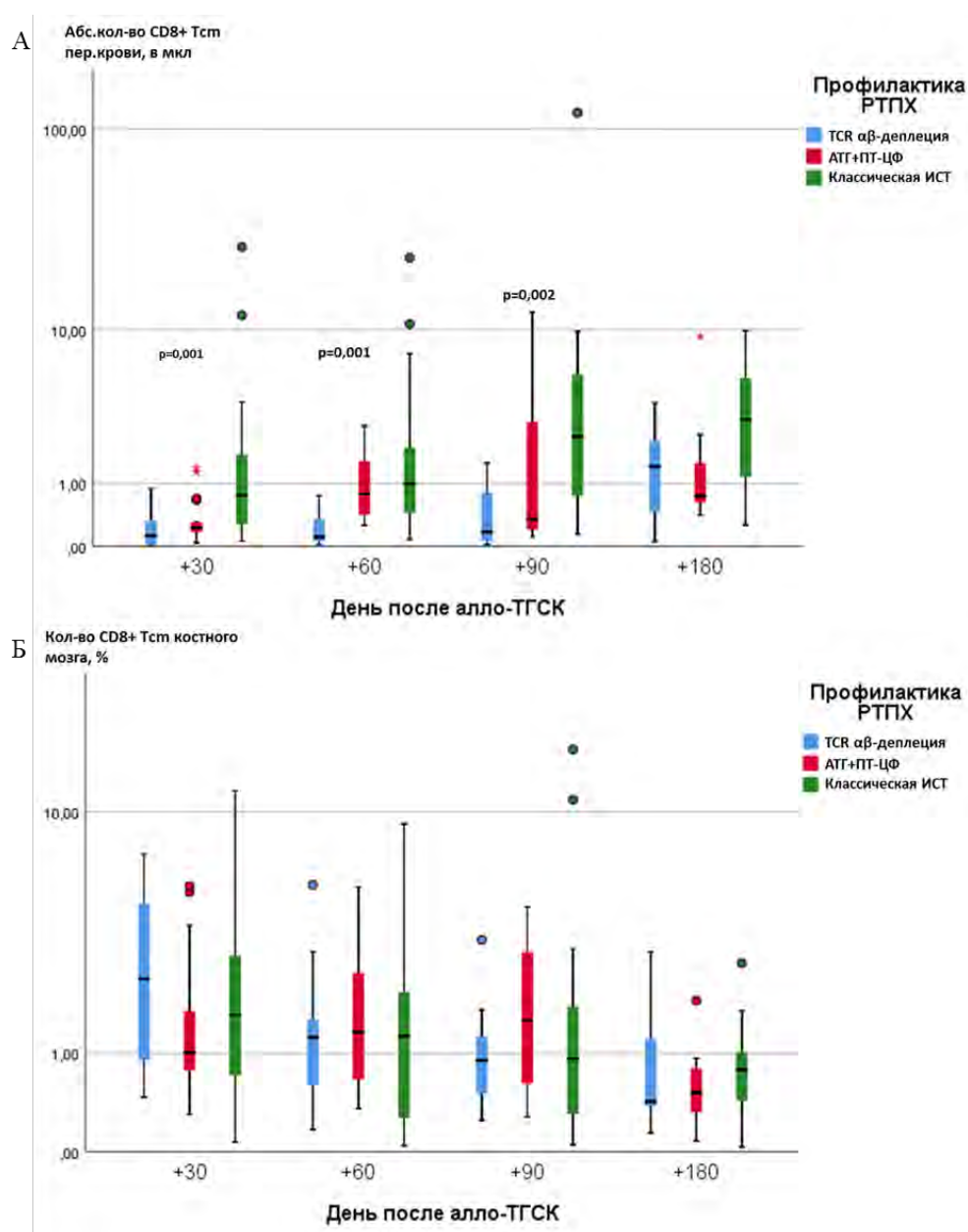


Рисунок 17 – Реконституция CD8⁺ Тсм у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD8⁺ Тсм периферической крови, Б – реконституция CD8⁺ Тсм костного мозга

3.4.10 Реконституция CD8⁺ Ttm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На всех сроках исследования (+30, +60, +90, +180 дни) абсолютное количество CD8⁺ Ttm периферической крови достоверно отличалось в зависимости от применяемой ИСТ ($p < 0,05$): абсолютное количество CD8⁺ Ttm было больше у пациентов после классической ИСТ, чем после альтернативных режимов профилактики (рисунок 18, А). Количество CD8⁺ Ttm костного мозга было значимо больше после АТГ+ПТ-ЦФ и TCR αβ-деплеции в сравнении с классической ИСТ ($p = 0,021$). Реконституция CD8⁺ Ttm костного мозга на +60, +90 и +180 дни значимо не отличалась (рисунок 18, Б).

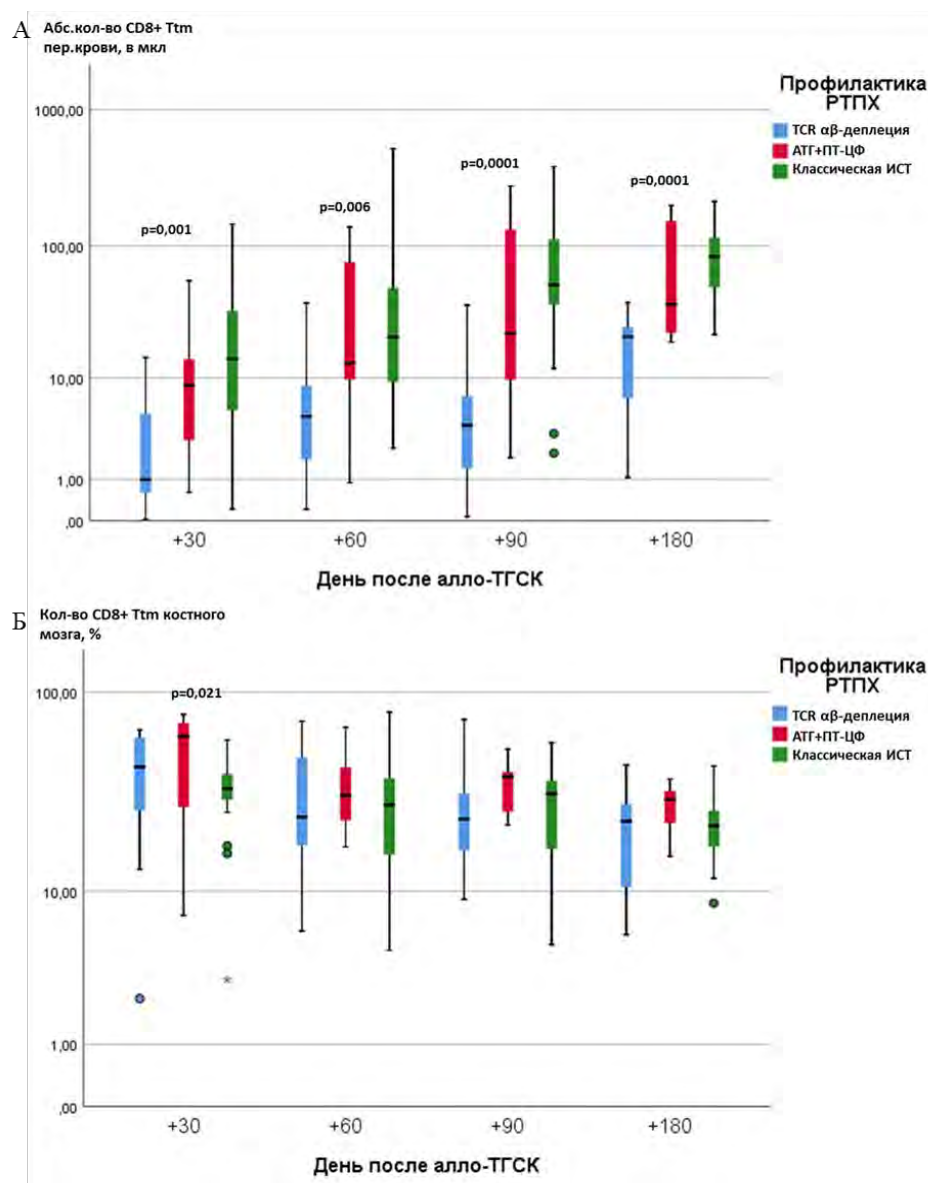


Рисунок 18 – Реконституция CD8⁺ Ttm у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD8⁺ Ttm периферической крови, Б – реконституция CD8⁺ Ttm костного мозга

3.4.11 Реконституция CD8⁺ Тем у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

На +30 день абсолютное количество CD8⁺ Тем периферической крови у пациентов после классической ИСТ было значимо больше в сравнении с АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплецией ($p = 0,025$). Реконституция CD8⁺ Тем периферической крови на +60 и +90 дни достоверно не отличалась. На +180 день абсолютное количество CD8⁺ Тем вновь было значимо больше у больных, которым проводили классическую ИСТ, по сравнению с альтернативными режимами (рисунок 19, А). Реконституция CD8⁺ Тем костного мозга достоверно отличалась на +30 день ($p = 0,038$). На последующих сроках (+60, +90, +180 дни) количество CD8⁺ Тем костного мозга достоверно не отличалось в зависимости от режима ИСТ (рисунок 19, Б).

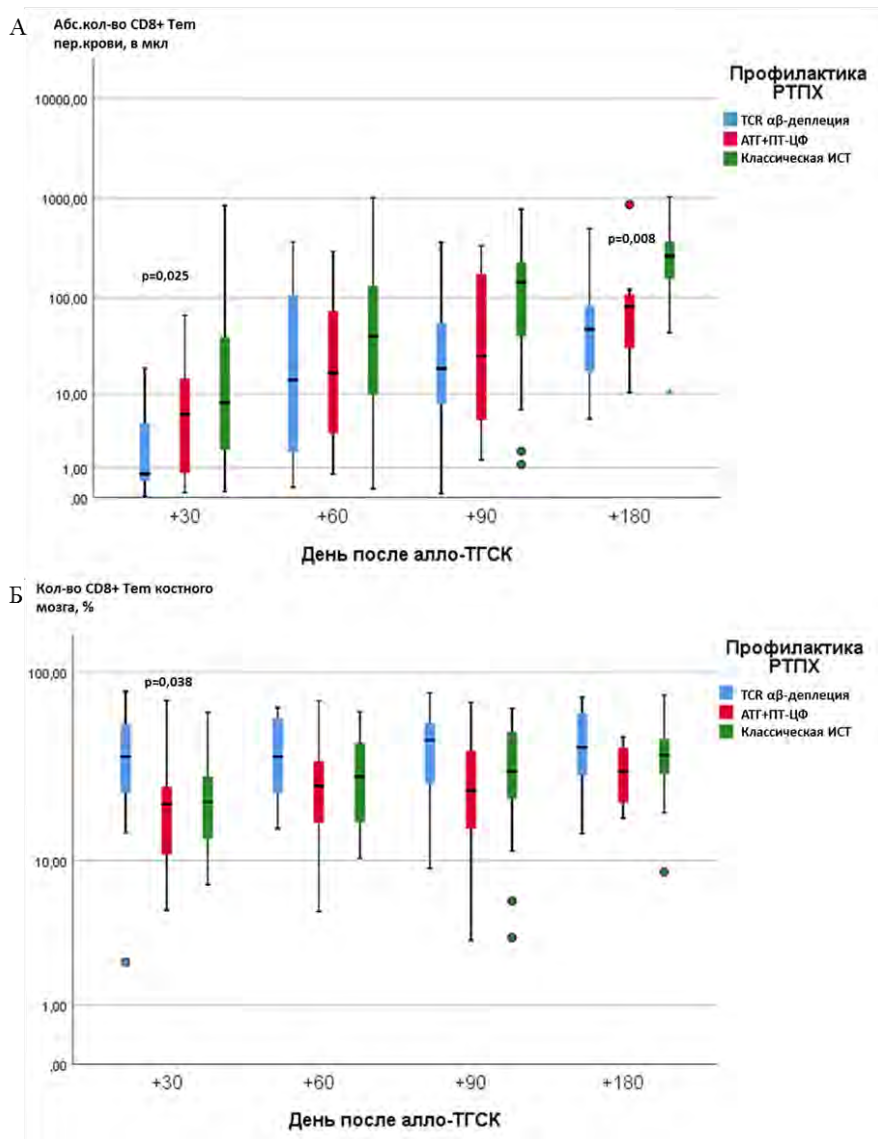


Рисунок 19 – Реконституция CD8⁺ Тем у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD8⁺ Тем периферической крови, Б – реконституция CD8⁺ Тем костного мозга

3.4.12 Реконституция CD8⁺ Tte у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ

Абсолютное количество клеток CD8⁺ Tte периферической крови у пациентов после альтернативных режимов профилактики острой РТПХ (АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеции) на +30, +90, +180 дни было значимо меньше в сравнении с классической ИСТ (рисунок 20, А). Количество CD8⁺ Tte костного мозга на +30 день было значимо меньше также после альтернативных режимов (p = 0,003). На +60, +90, +180 дни восстановление CD8⁺ Tte костного мозга достоверно не отличалось (рисунок 20, Б).

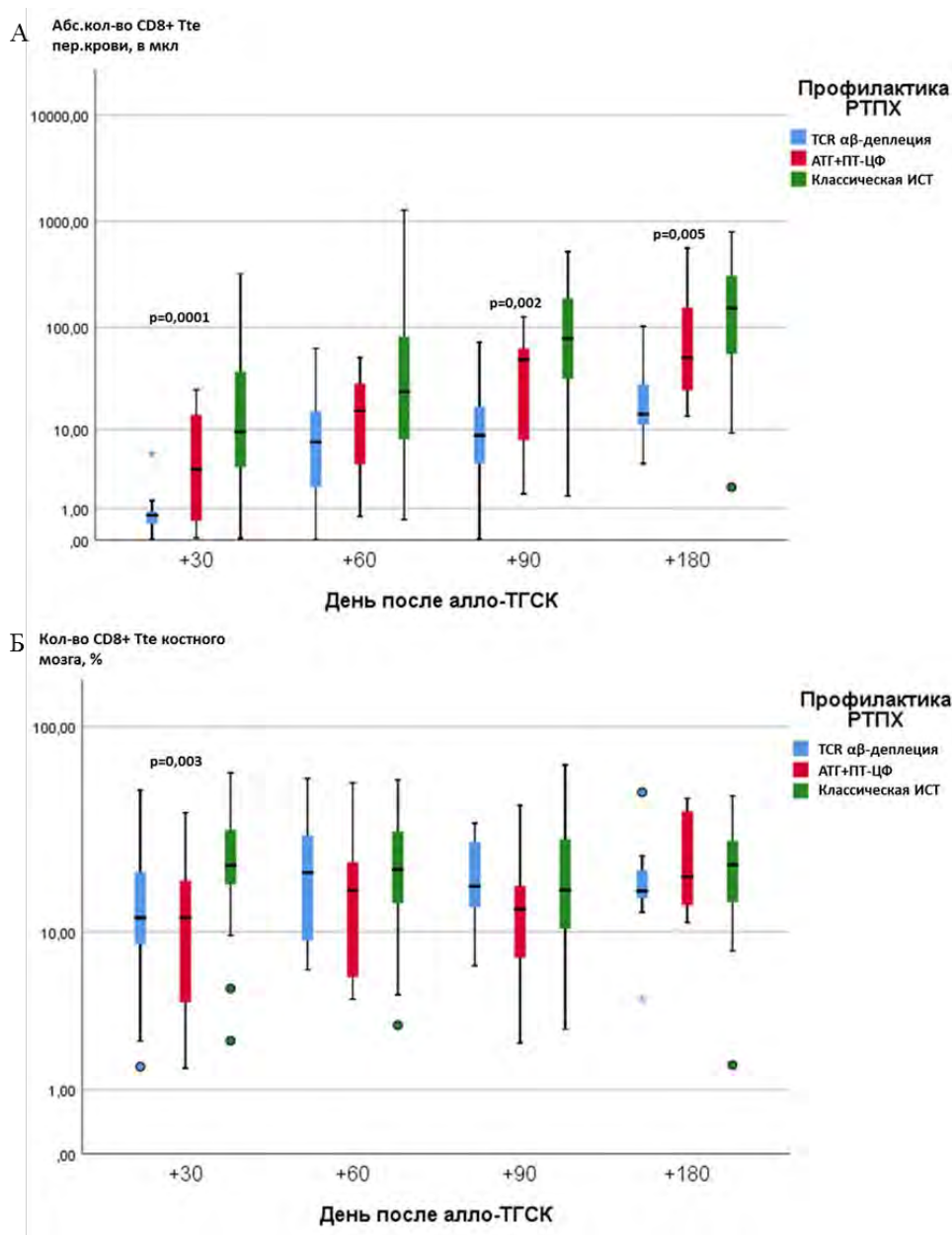


Рисунок 20 – Реконституция CD8⁺ Tte у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ. А – реконституция CD8⁺ Tte периферической крови, Б – реконституция CD8⁺ Tte костного мозга

3.5 Динамика восстановления субпопуляций Т-клеток памяти у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ

Исследование динамики восстановления субпопуляций Т-клеток памяти (влияние фактора времени на повторные измерения) проводилась внутри каждой группы пациентов. В качестве референсных значений использовались количественные значения исследуемых субпопуляций Т-клеток памяти здоровых доноров (группа контроля). Были получены статистически значимые различия на всех точках исследования у больных после ТCRαβ-деплеции ($p < 0,05$). Показано, что на ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60, +90 дни) восстановление Т-клеточного звена иммунной системы у этих пациентов происходит за счет не только клеток эффекторного пула (Tt, Tem, Tte), но и за счет популяций Tnv+scm и Tcm (рисунок 21).

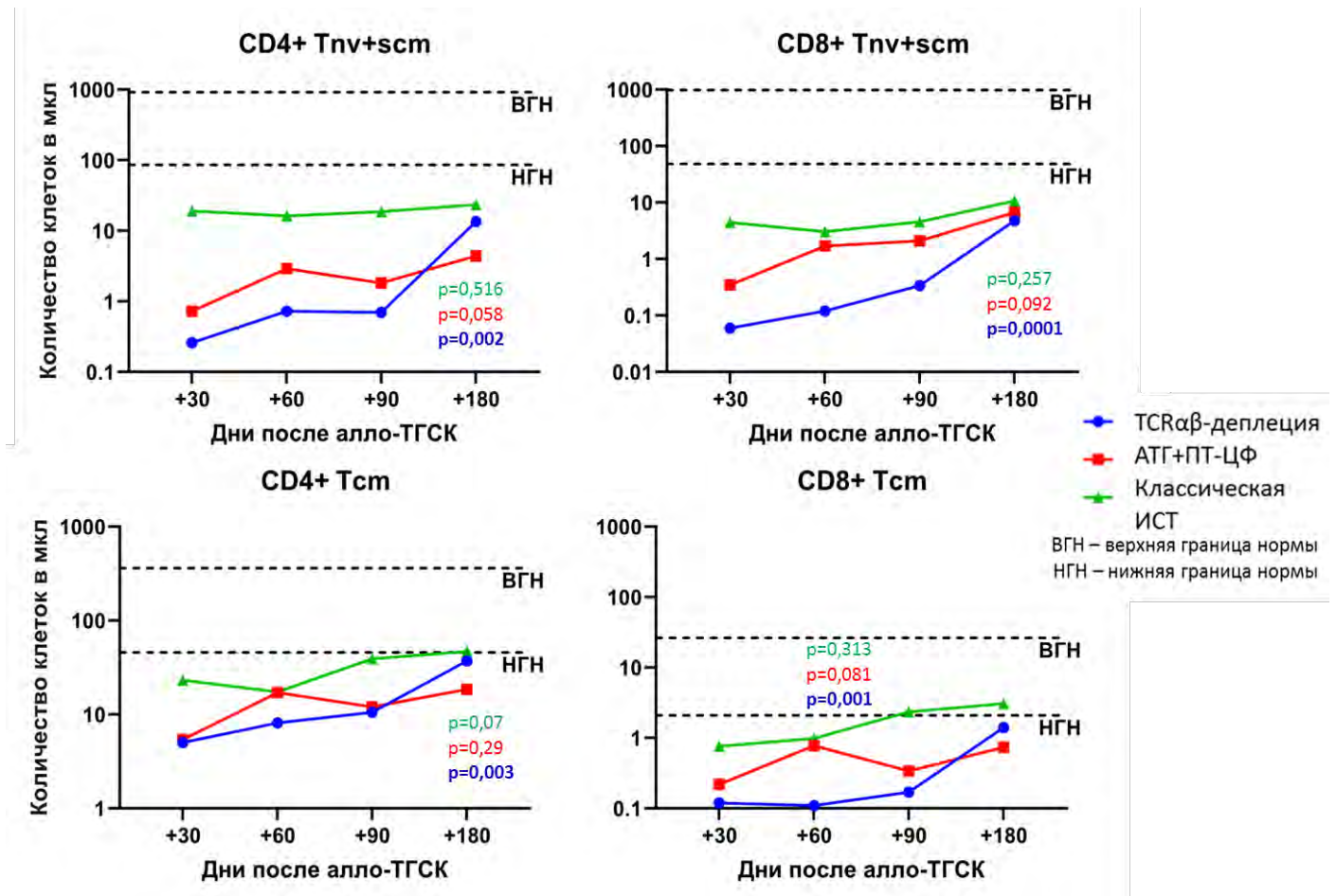


Рисунок 21 – Динамика восстановления Tnv+scm и Tcm периферической крови у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ

Напротив, динамика восстановления субпопуляций Tnv+scm и Tcm достоверно не различалась на всех точках исследования у пациентов после классической ИСТ и после АТГ+ПТ-ЦФ ($p > 0,05$). Показано, что при использовании классического режима и АТГ+ПТ-ЦФ реконституция происходит преимущественно за счет пула эффекторных Т-клеток (рисунок 22).

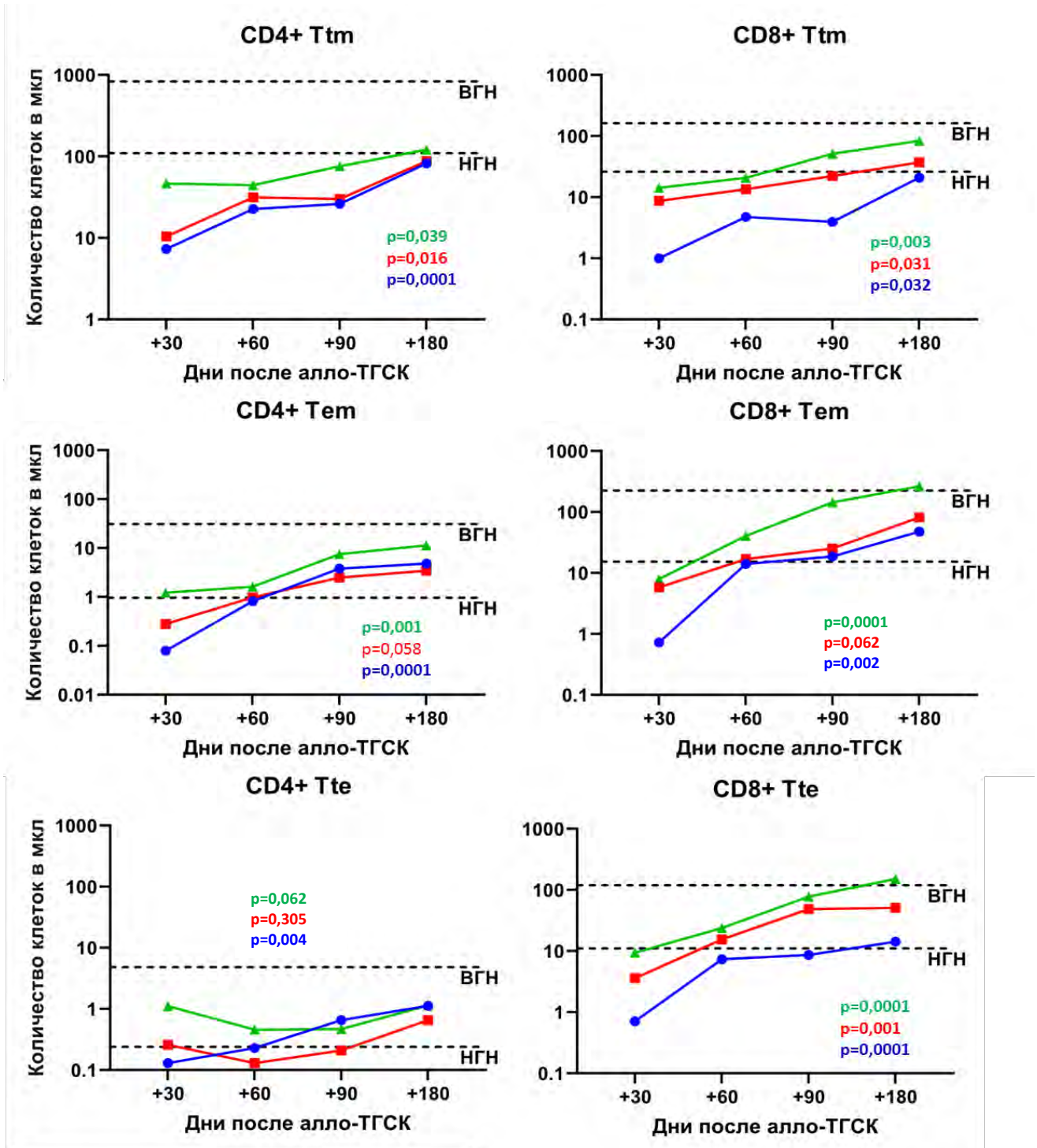
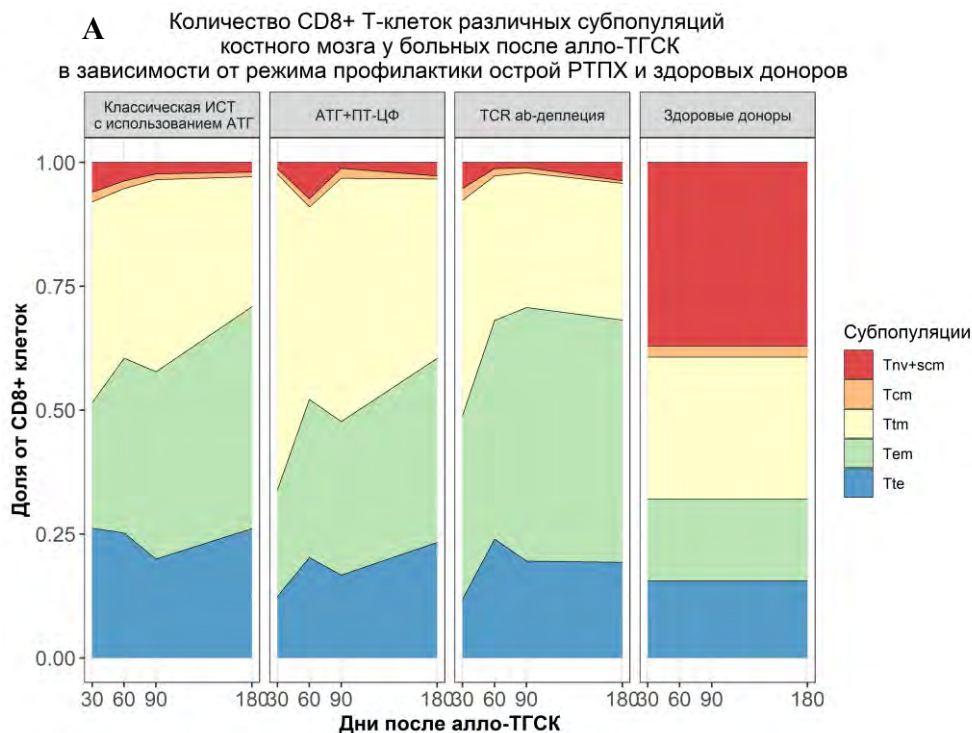


Рисунок 22 – Динамика восстановления Т-клеток эффекторного пула периферической крови пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ

Нужно отметить, что независимо от режима профилактики острой РТПХ субпопуляция T_{nv+scm} не достигает референсных значений даже на сроке +6 месяцев после алло-ТГСК, что свидетельствует о том, что восстановление Т-клеточного звена происходит в более отдаленном периоде и не зависит от режима профилактики острой РТПХ.

3.6 Распределение субпопуляций Т-клеток памяти в костном мозге у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и у здоровых доноров

Мы предположили, что у пациентов с острыми лейкозами в ранние сроки после алло-ТГСК в костном мозге будут превалировать истинные клетки памяти (T_{cm}), что будет свидетельствовать о реализации реакции «трансплантат против опухоли». Однако было отмечено, что на всех сроках – на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК, в костном мозге преобладают Т-клетки эффекторного пула (T_{tm} , T_{em} , T_{te}), в то время как общая популяция T_{cm} не превышает 20% ($CD4^+$ – 12,46% (10,34–19,58%), $CD8^+$ – 1,125% (0,42–2,39%)), а пул T_{nv+scm} составляет не более 15% ($CD4^+$ – 5,77% (1,64–15,04%), $CD8^+$ – 2,075% (0,94–5,89%)) (таблица 13, 14). У здоровых людей костный мозг является более гетерогенным, при этом значительная часть приходится на наивные Т-клетки ($CD4^+$ T_{nv+scm} – 35,8% (27,87–43,39%), $CD8^+$ T_{nv+scm} – 32,58% (19,46–36,8%)) (таблица 9). Распределение субпопуляций Т-клеток памяти в костном мозге у пациентов после алло-ТГСК и у здоровых доноров представлено на рисунке 23.



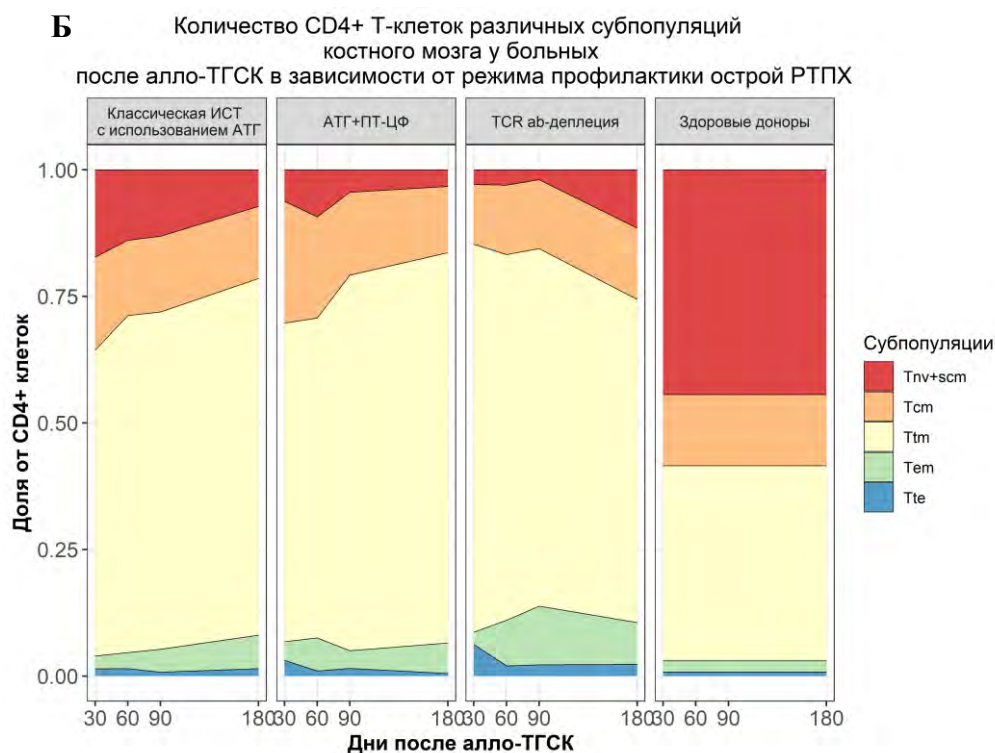


Рисунок 23 – Субпопуляционный состав костного мозга у здоровых доноров и у пациентов после алло-ТГСК. А – распределение субпопуляций CD8⁺ Т-клеток в костном мозге, Б – распределение субпопуляций CD4⁺ Т-клеток

3.7 Т-клетки памяти, экспрессирующие PD-1, у пациентов после алло-ТГСК и различной профилактики острой РТПХ

Известно, что одним из механизмов регуляции иммунного ответа является экспрессия рецепторов-активаторов или рецепторов-ингибиторов на иммунной клетке, взаимодействие с которыми обеспечивает, так называемый, «иммунный надзор за опухолью». Регуляция иммунного ответа у пациентов после алло-ТГСК на ранних сроках (в первые 6 месяцев) осуществляется в условиях «искусственного» его подавления за счет длительного воздействия различной, как правило, многокомпонентной ИСТ. Несмотря на это, реализация реакции «трансплантат против опухоли» уже на самых ранних этапах после алло-ТГСК является ключевым механизмом контроля за опухолью.

Мы определили процентное количество Т-клеток исследуемых субпопуляций (Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte) периферической крови и костного мозга, экспрессирующих PD-1 –

негативный регулятор иммунного ответа, у пациентов после алло-ТГСК после различных режимов профилактики острой РТПХ. Результаты суммированы в таблицах 15 и 16.

Таблица 15. Доля PD-1⁺ CD4⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от режима профилактики острой РТПХ

День после алло-ТГСК	Локализация	Субпопуляция PD-1 ⁺ CD4 ⁺ Т-клеток	Доля клеток, %			Значение р
			медиана (процентиль 25 – процентиль 75)			
			Классический режим с использованием АТГ	АТГ+ПТ-ЦФ	TCR αβ-деплеция	
+30	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	0,95 (0,61-1,86)	3,51 (1,60-5,72)	14,29 (5,56-26,32)	0,0001
		Tcm PD-1 ⁺	25,26 (18,18-42,92)	48,72 (37,29-63,14)	86,00 (66,67-90,86)	0,0001
		Ttm PD-1 ⁺	53,92 (40,04-67,67)	74,74 (66,61-81,96)	90,14 (80,17-94,74)	0,0001
		Tem PD-1 ⁺	52,80 (26,83-85,15)	52,47 (29,94-70,13)	100,00 (37,50-100,00)	0,057
		Tte PD-1 ⁺	7,56 (1,60-14,23)	14,98 (3,19-17,95)	4,17 (1,59-25,00)	0,560
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	1,42 (0,53-2,51)	4,01 (2,41-8,33)	12,50 (3,33-47,06)	0,003
		Tcm PD-1 ⁺	31,08 (22,57-38,87)	59,37 (47,93-70,59)	82,67 (66,67-91,60)	0,0001
		Ttm PD-1 ⁺	56,10 (48,25-66,52)	79,12 (73,10-88,36)	87,81 (82,54-94,67)	0,0001
		Tem PD-1 ⁺	50,00 (38,06-75,19)	53,87 (31,22-74,47)	74,29 (50,00-92,31)	0,174
		Tte PD-1 ⁺	6,35 (3,85-18,18)	4,44 (2,33-20,00)	33,33 (20,00-100,0)	0,046
+60	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	1,83 (0,96-2,60)	2,85 (1,49-7,37)	25,00 (15,52-36,17)	0,0001
		Tcm PD-1 ⁺	40,90 (34,98-52,52)	46,51 (40,16-59,20)	74,19 (66,50-81,16)	0,0001
		Ttm PD-1 ⁺	69,91 (55,95-80,54)	72,05 (68,06-83,56)	86,62 (79,62-94,41)	0,018
		Tem PD-1 ⁺	78,92 (50,19-89,93)	55,16 (26,32-77,37)	93,13 (67,05-95,30)	0,043
		Tte PD-1 ⁺	24,44 (14,94-69,36)	21,32 (7,69-50,00)	41,67 (14,29-63,19)	0,511
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	1,50 (0,92-4,55)	3,00 (1,18-9,33)	28,25 (11,76-45,45)	0,008
		Tcm PD-1 ⁺	43,88 (38,64-54,07)	44,52 (39,17-61,19)	76,92 (58,63-85,91)	0,001
		Ttm PD-1 ⁺	74,10 (63,30-80,32)	75,48 (64,38-84,50)	88,89 (81,68-95,27)	0,005
		Tem PD-1 ⁺	79,39 (60,00-89,39)	56,76 (35,29-73,08)	89,29 (50,00-96,43)	0,051
		Tte PD-1 ⁺	27,78 (14,71-51,43)	19,10 (10,81-32,00)	41,57 (3,85-97,92)	0,595
+90	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	1,42 (0,99-3,91)	5,62 (4,24-11,31)	13,89 (8,34-22,79)	0,0001
		Tcm PD-1 ⁺	49,92 (36,02-63,04)	48,91 (43,99-70,20)	63,88 (57,89-78,08)	0,087
		Ttm PD-1 ⁺	69,45 (62,96-82,46)	69,73 (63,43-80,60)	79,45 (77,25-90,05)	0,058
		Tem PD-1 ⁺	74,24 (52,30-86,52)	64,95 (40,91-85,07)	79,55 (71,88-95,09)	0,276
		Tte PD-1 ⁺	22,25 (6,38-31,53)	21,43 (18,02-26,63)	30,30 (13,33-60,56)	0,555
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	3,14 (1,32-4,76)	8,07 (3,23-16,67)	24,75 (14,19-30,30)	0,005
		Tcm PD-1 ⁺	51,63 (44,63-67,71)	62,26 (37,84-73,68)	70,96 (62,61-80,35)	0,029
		Ttm PD-1 ⁺	72,66 (70,99-85,97)	79,03 (74,52-82,11)	88,40 (78,41-90,72)	0,147
		Tem PD-1 ⁺	76,96 (64,80-85,36)	77,60 (66,67-85,15)	67,92 (44,37-83,59)	0,659
		Tte PD-1 ⁺	24,48 (5,26-45,78)	13,57 (6,67-33,33)	34,29 (6,67-64,71)	0,587

+180	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	2,99 (1,84-6,32)	2,84 (2,17-5,91)	8,89 (6,44-11,69)	0,003
		Tcm PD-1 ⁺	55,37 (43,06-60,29)	48,78 (39,84-59,60)	66,50 (61,59-75,47)	0,001
		Ttm PD-1 ⁺	75,94 (65,65-80,27)	71,16 (62,71-77,79)	83,22 (77,40-86,95)	0,015
		Tem PD-1 ⁺	76,27 (61,62-86,56)	75,39 (71,37-80,66)	80,09 (75,56-93,62)	0,394
		Tte PD-1 ⁺	28,54 (16,67-38,97)	26,85 (13,70-40,00)	45,45 (25,71-62,42)	0,275
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	3,18 (0,95-4,76)	3,19 (1,60-10,00)	5,00 (3,23-12,41)	0,157
		Tcm PD-1 ⁺	55,82 (36,98-68,59)	59,07 (53,31-65,90)	69,44 (54,26-89,00)	0,057
		Ttm PD-1 ⁺	78,29 (69,52-82,23)	78,16 (71,32-83,12)	87,11 (80,75-93,02)	0,014
		Tem PD-1 ⁺	74,09 (51,19-90,18)	80,49 (78,57-90,12)	85,38 (80,56-92,31)	0,471
		Tte PD-1 ⁺	8,33 (7,14-32,58)	27,66 (15,38-50,00)	24,53 (16,67-56,82)	0,162

Таблица 16. Доля PD-1⁺ CD8⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от профилактики острой РТПХ

День после алло-ТГСК	Локализация	Субпопуляция PD-1 ⁺ CD8 ⁺ Т-клеток	Доля клеток, % медиана (процентиль 25 – процентиль 75)			Значение р
			Классический режим с использованием АТГ	АТГ+ПТ-ЦФ	TCR αβ-деплегция	
+30	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	3,65 (1,35-5,42)	7,73 (2,91-10,71)	38,64 (15,05-56,25)	0,027
		Tcm PD-1 ⁺	33,33 (21,15-38,80)	50,00 (36,43-57,14)	89,29 (56,25-100,00)	0,0001
		Ttm PD-1 ⁺	64,15 (57,72-72,40)	70,74 (59,52-83,33)	94,44 (88,82-97,51)	0,0001
		Tem PD-1 ⁺	59,41 (50,01-69,06)	45,09 (28,17-80,60)	94,83 (87,10-96,71)	0,0001
		Tte PD-1 ⁺	37,52 (17,49-44,28)	38,79 (16,85-61,54)	34,00 (25,00-48,02)	0,755
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	3,70 (1,89-5,45)	9,09 (4,00-15,00)	32,14 (12,14-75,00)	0,007
		Tcm PD-1 ⁺	43,75 (32,00-61,54)	62,50 (30,65-80,00)	100,0 (100,0-100,0)	0,001
		Ttm PD-1 ⁺	72,83 (69,23-81,88)	83,15 (71,21-93,42)	94,80 (89,19-100,0)	0,0001
		Tem PD-1 ⁺	62,30 (52,50-72,53)	54,33 (40,38-81,25)	86,67 (59,26-95,97)	0,013
		Tte PD-1 ⁺	36,84 (22,81-42,23)	40,61 (19,33-66,67)	33,33 (11,11-63,64)	0,947
+60	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	5,66 (2,16-9,93)	4,46 (3,05-18,42)	33,33 (22,22-44,83)	0,0001
		Tcm PD-1 ⁺	44,44 (37,78-58,82)	60,24 (49,07-70,83)	85,16 (75,00-96,88)	0,001
		Ttm PD-1 ⁺	68,23 (63,12-81,39)	75,11 (70,82-84,36)	89,29 (81,88-95,35)	0,042
		Tem PD-1 ⁺	65,07 (53,97-74,58)	62,85 (32,34-78,45)	91,17 (72,07-94,35)	0,009
		Tte PD-1 ⁺	41,55 (26,34-49,24)	50,29 (9,85-72,88)	70,91 (16,85-76,78)	0,349
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	6,77 (5,00-9,63)	6,31 (4,42-15,22)	40,95 (20,00-62,26)	0,002
		Tcm PD-1 ⁺	66,67 (54,55-76,92)	66,67 (53,85-68,42)	85,00 (80,00-87,50)	0,015
		Ttm PD-1 ⁺	79,71 (75,13-86,98)	73,56 (68,09-85,71)	91,93 (86,38-97,33)	0,006
		Tem PD-1 ⁺	63,89 (52,36-76,62)	56,79 (44,32-80,00)	79,77 (72,38-90,91)	0,007
		Tte PD-1 ⁺	45,32 (30,56-54,11)	45,07 (20,59-62,50)	61,92 (17,65-79,31)	0,730

+90	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	9,44 (4,52-15,49)	13,21 (9,43-28,03)	19,44 (10,80-38,30)	0,272
		Tcm PD-1 ⁺	61,19 (49,20-68,25)	70,24 (44,05-70,37)	70,75 (50,00-80,00)	0,320
		Ttm PD-1 ⁺	75,08 (60,57-84,82)	77,16 (68,75-84,42)	75,14 (71,19-87,61)	0,647
		Tem PD-1 ⁺	57,49 (36,71-76,19)	70,25 (50,45-81,27)	79,86 (67,68-88,79)	0,010
		Tte PD-1 ⁺	35,44 (16,41-47,10)	32,29 (29,44-59,12)	40,51 (23,48-59,14)	0,483
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	7,32 (4,40-13,19)	26,00 (23,08-32,47)	33,97 (16,67-80,00)	0,093
		Tcm PD-1 ⁺	72,08 (60,00-84,38)	81,82 (75,00-87,50)	88,91 (67,95-100,0)	0,067
		Ttm PD-1 ⁺	80,84 (73,12-87,44)	83,46 (78,05-93,75)	88,54 (85,04-93,11)	0,078
		Tem PD-1 ⁺	61,43 (51,98-66,97)	65,22 (56,67-75,87)	74,12 (62,50-86,57)	0,063
		Tte PD-1 ⁺	43,69 (27,06-57,60)	37,91 (25,61-59,66)	57,48 (16,67-64,15)	0,821
+180	Периферическая кровь	Tnv+scm PD-1 ⁺	20,13 (10,04-29,18)	13,59 (8,60-19,47)	9,52 (5,17-18,24)	0,302
		Tcm PD-1 ⁺	53,79 (50,22-64,74)	47,10 (39,91-62,18)	66,67 (52,48-88,68)	0,090
		Ttm PD-1 ⁺	65,95 (50,84-76,98)	70,14 (58,49-83,25)	81,18 (71,30-90,93)	0,043
		Tem PD-1 ⁺	40,87 (31,61-63,34)	56,58 (36,58-78,36)	84,49 (74,57-93,51)	0,002
		Tte PD-1 ⁺	38,84 (21,04-42,28)	38,41 (17,75-60,07)	50,78 (36,40-69,24)	0,179
	Костный мозг	Tnv+scm PD-1 ⁺	17,86 (13,21-29,13)	8,33 (5,10-42,86)	20,08 (13,33-26,83)	0,733
		Tcm PD-1 ⁺	77,12 (60,00-83,33)	64,29 (55,00-76,92)	70,09 (66,67-100,0)	0,314
		Ttm PD-1 ⁺	78,52 (67,87-89,72)	74,55 (59,68-91,58)	93,33 (83,65-96,52)	0,045
		Tem PD-1 ⁺	55,43 (34,43-67,36)	59,40 (41,40-79,54)	86,70 (62,95-96,98)	0,003
		Tte PD-1 ⁺	41,52 (26,44-50,41)	43,88 (24,80-69,03)	64,13 (45,57-80,88)	0,079

3.7.1 Экспрессия PD-1 на CD4⁺ Tnv+scm у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На всех сроках (+30, +60, +90, +180 дни) доля PD-1⁺ клеток популяции CD4⁺ Tnv+scm периферической крови была значимо больше после TCR αβ-деплеции в сравнении АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ (p < 0,05). На +30, +60, +90 дни доля PD-1⁺ клеток популяции CD4⁺ Tnv+scm костного мозга была также значимо больше после TCR αβ-деплеции в сравнении АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ (p < 0,05). Количество PD-1⁺ CD4⁺ Tnv+scm достоверное не отличалось на +180 день (рисунок 24).

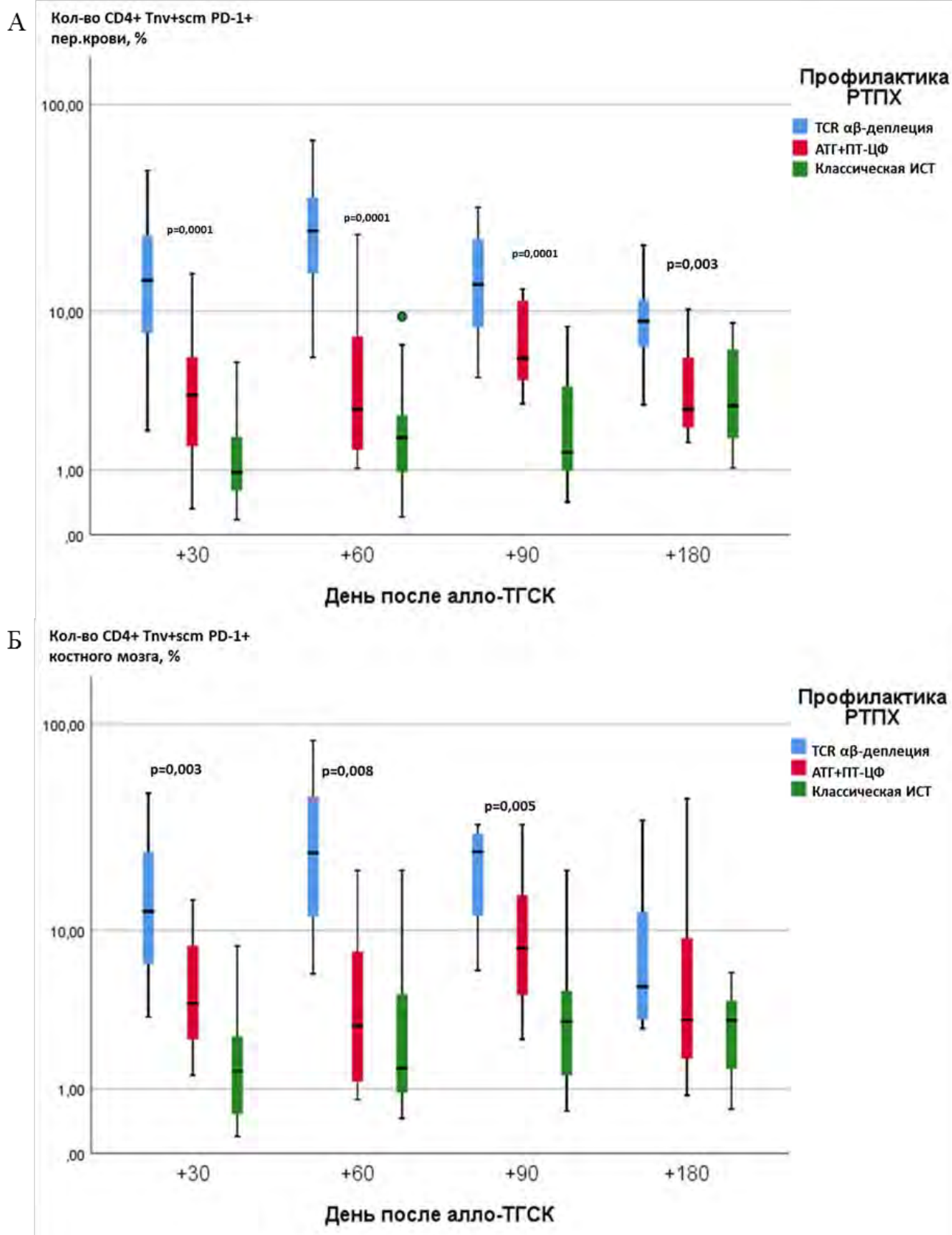


Рисунок 24 – Доля PD-1⁺ CD4⁺ Tnv+scm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD4⁺ Tnv+scm периферической крови, Б – PD-1⁺ CD4⁺ Tnv+scm костного мозга после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.7.2 Экспрессия PD-1 на CD4⁺ Тсм у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60 дни) доля PD-1⁺ CD4⁺ Тсм периферической крови было больше у пациентов после TCR αβ-деплеции в сравнении с АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ (p = 0,0001). Доля PD-1⁺ клеток CD4⁺ Тсм периферической крови была также значимо больше после TCR αβ-деплеции на +180 день (p = 0,001). Доля PD-1⁺ клеток костного мозга достоверно отличалась на +30, +60, +90 дни и была больше после TCR αβ-деплеции (p < 0,05), в сравнении с другими схемами профилактики острой РТПХ (рисунок 25).

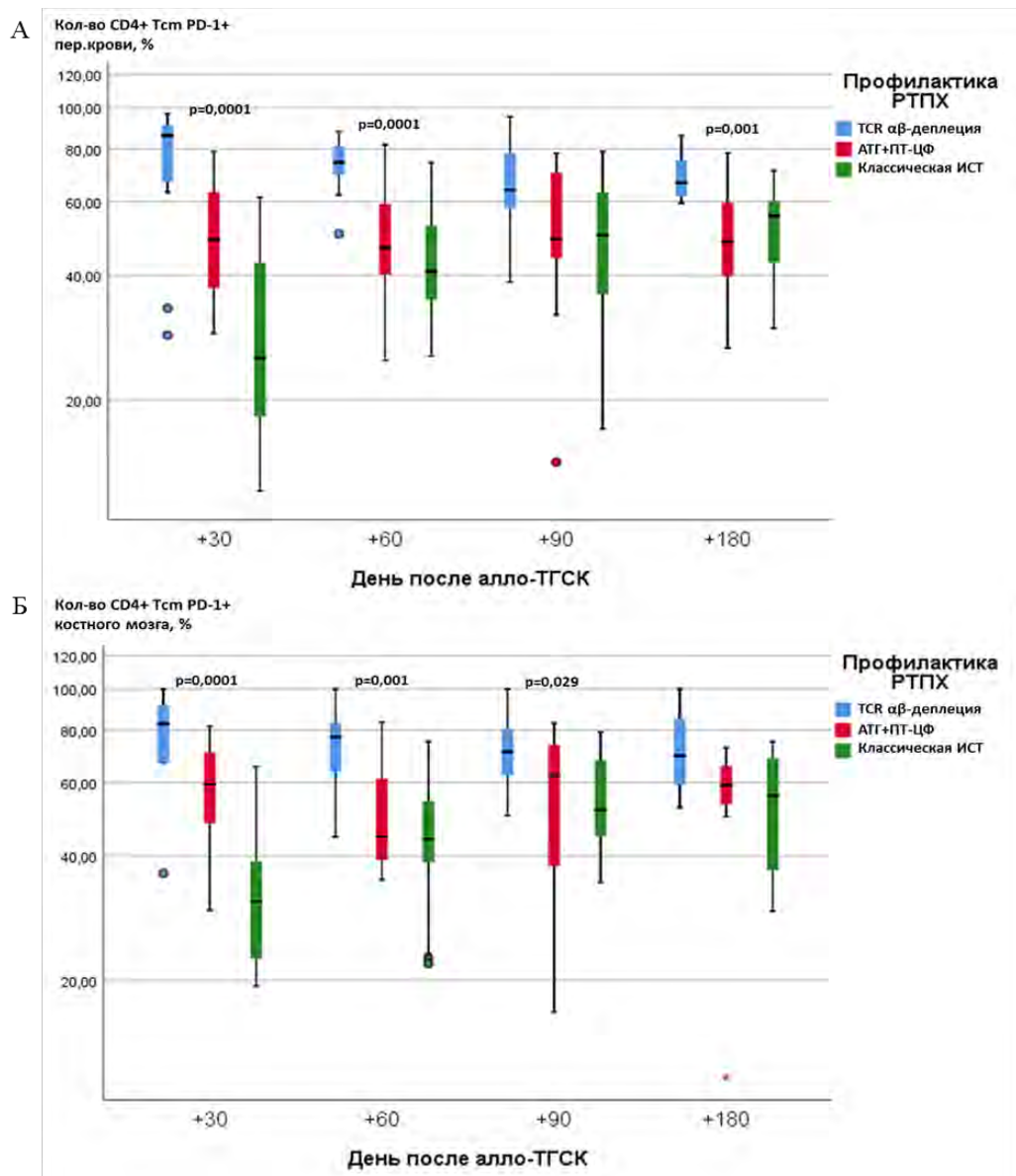


Рисунок 25 – Доля PD-1⁺ CD4⁺ Тсм у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD4⁺ Тсм периферической крови, Б – PD-1⁺ CD4⁺ Тсм костного мозга после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.7.3 Экспрессия PD-1 на CD4⁺ Ttm у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На +30, +60, +180 дни доля PD-1⁺ клеток CD4⁺ Ttm периферической крови и костного мозга была значимо больше у пациентов после TCR αβ-деплеции, в сравнении с АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ (p < 0,05). Доля PD-1⁺ CD4⁺ Ttm периферической крови и костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ показана на рисунке 26.

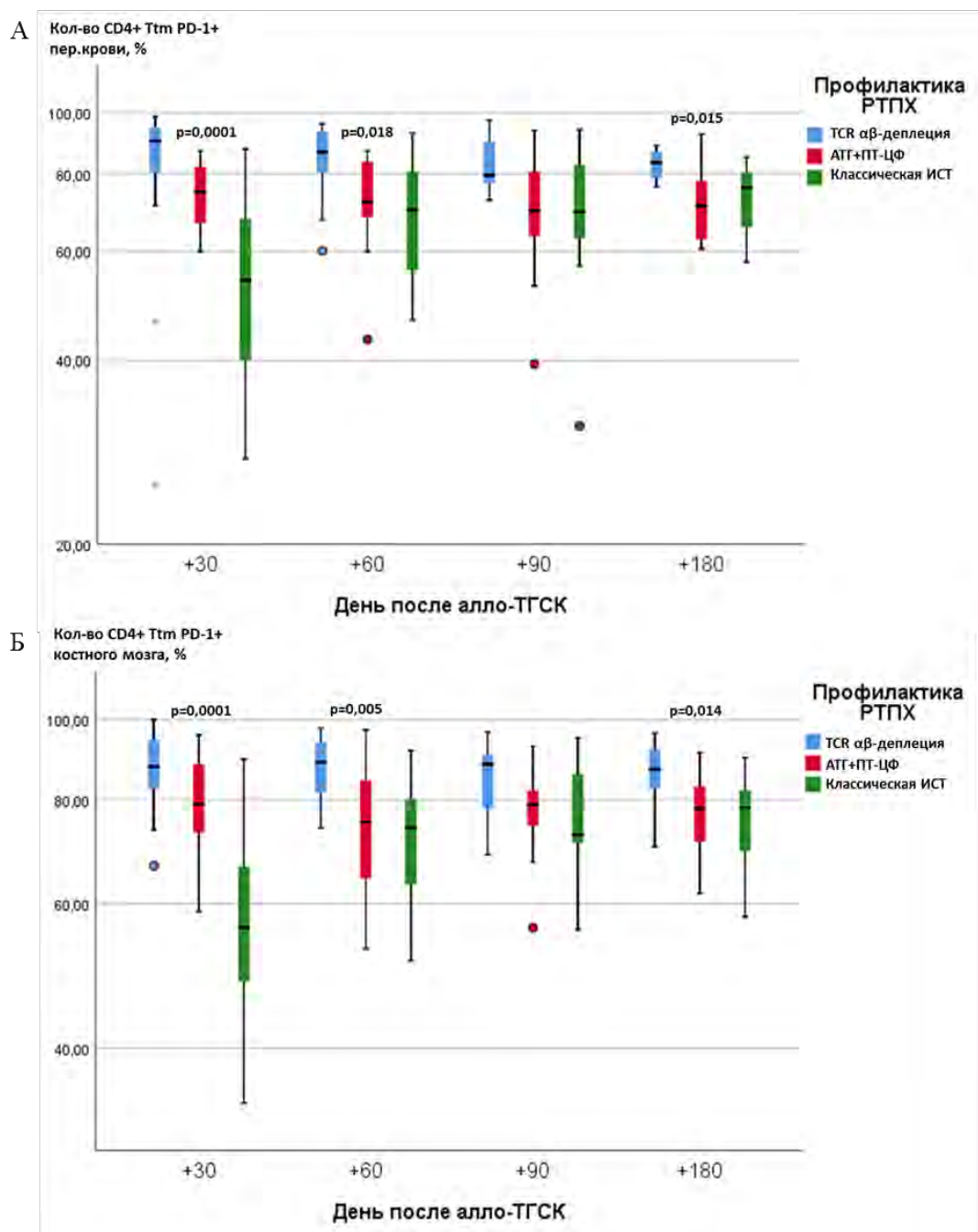


Рисунок 26 – Доля PD-1⁺ CD4⁺ Ttm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD4⁺ Ttm периферической крови, Б – PD-1⁺ CD4⁺ Ttm костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики РТПХ

3.7.4 Экспрессия PD-1 на CD4⁺ Тем у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На +30 день доля PD-1⁺ CD4⁺ Тем периферической крови и костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ значительно не отличалось. Количество PD-1⁺ CD4⁺ Тем периферической крови на +60 день было значимо больше у пациентов после гаплогенотипической ТГСК с TCR αβ-деплецией ($p = 0,043$). Доля PD-1⁺ клеток исследуемой популяции достоверно не отличалась на +90 и +180 дни (рисунок 27).

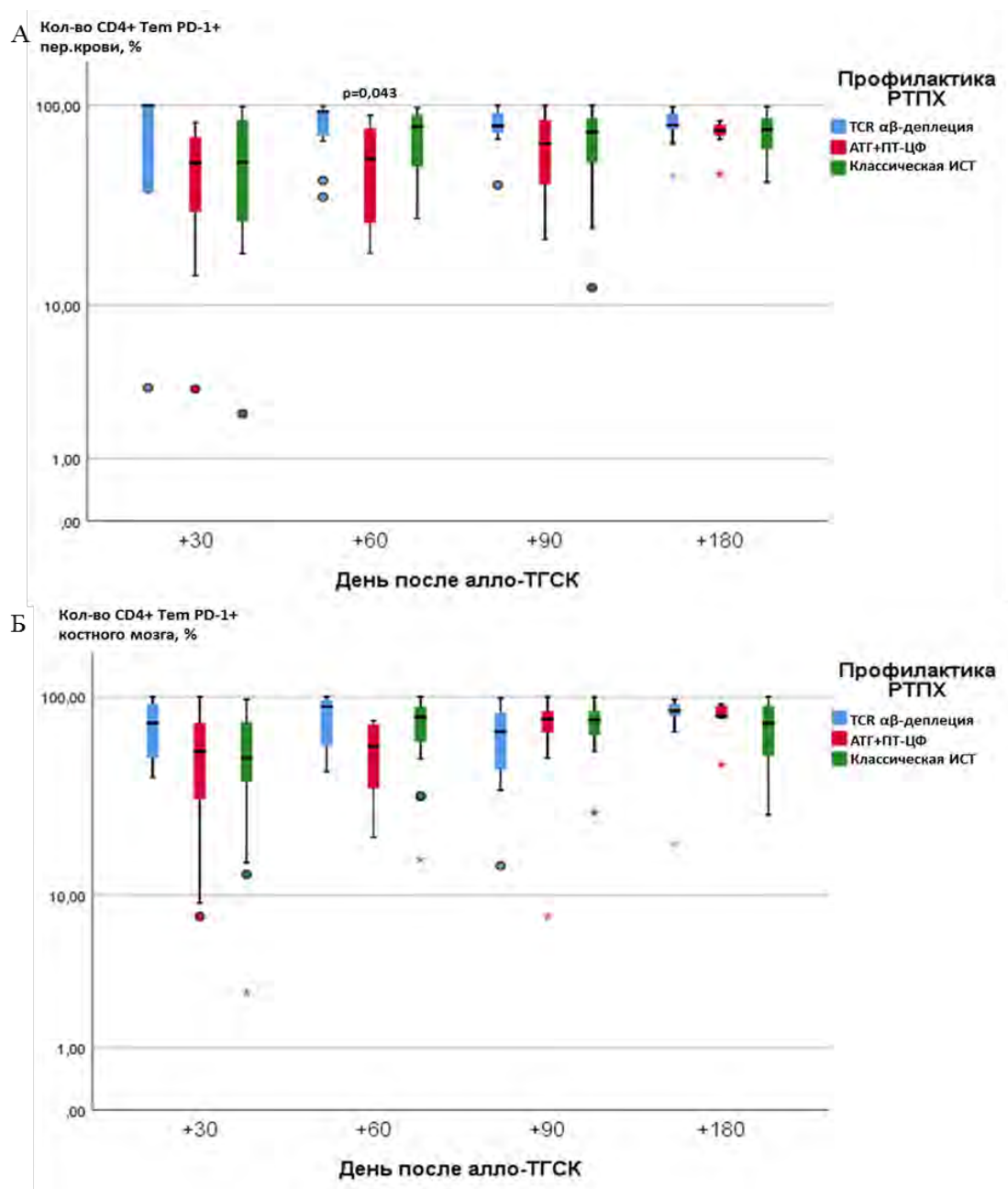


Рисунок 27 – Доля PD-1⁺ CD4⁺ Тем у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD4⁺ Тем периферической крови, Б – PD-1⁺ CD4⁺ Тем костного мозга в зависимости от режима профилактики острой РТПХ

3.7.5 Экспрессия PD-1 на CD4⁺ Tte у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

Доля PD-1⁺ CD4⁺ Tte периферической крови значимо не отличалась у больных в зависимости от режима профилактики острой РТПХ на всех контрольных сроках (рисунок 28, А). На +30 день доля PD-1⁺ CD4⁺ Tte костного мозга у пациентов после TCR αβ-деплеции была значимо больше в сравнении с классической ИСТ, АТГ+ПТ-ЦФ (p = 0,046). В дальнейшем процент PD-1⁺ клеток CD4⁺ Tte костного мозга достоверно не отличался в зависимости от режима ИСТ (рисунок 28, Б).

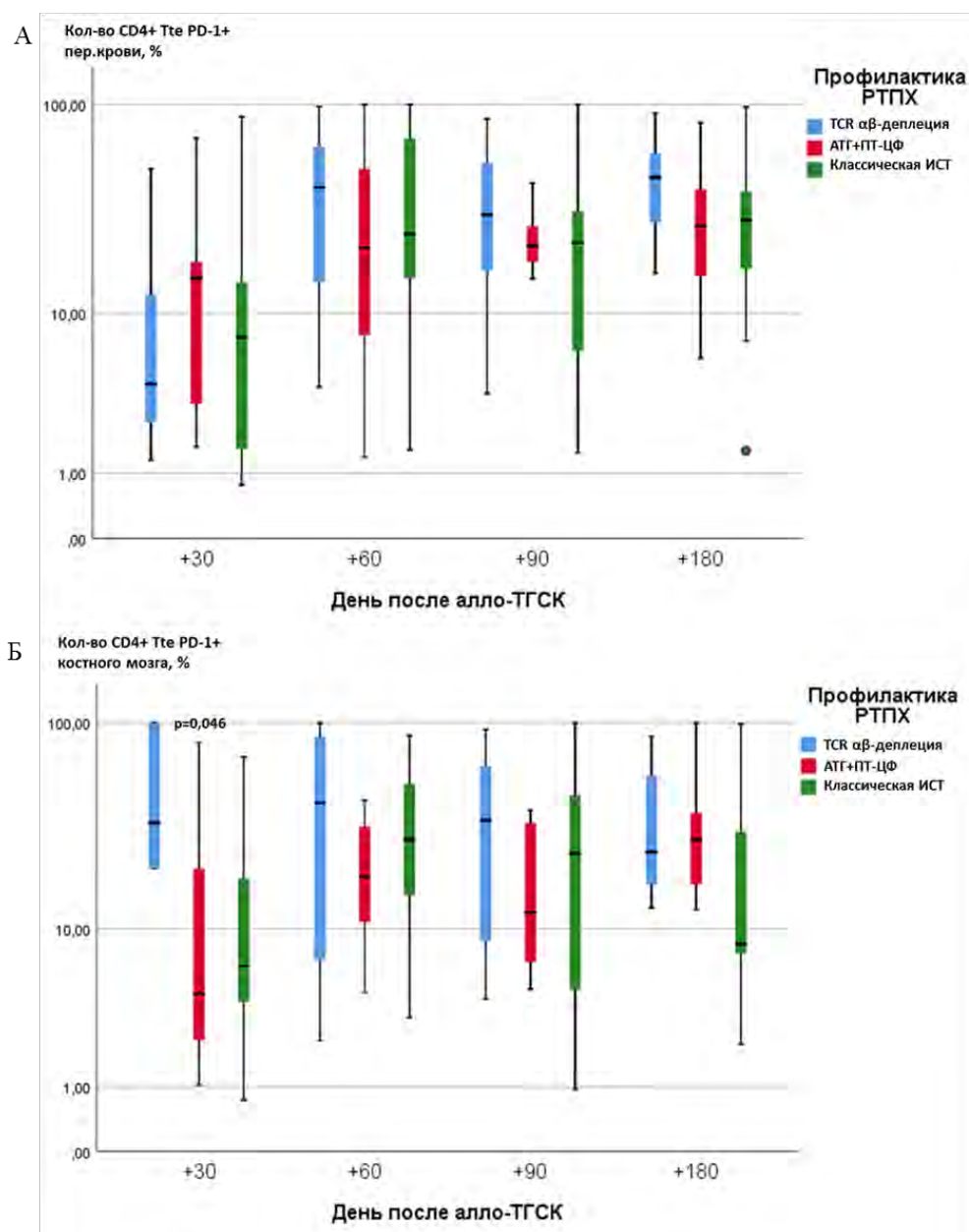


Рисунок 28 – Доля PD-1⁺ CD4⁺ у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD4⁺ Tte периферической крови, Б – PD-1⁺ CD4⁺ Tte костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики РТПХ

3.7.6 Экспрессия PD-1 на CD8⁺ Tnv+scm у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На ранних сроках после алло-ТГСК (+30, +60 дни) доля PD-1⁺ клеток CD8⁺ Tnv+scm периферической крови и костного мозга была значимо больше в случае гапло-ТГСК с TCR αβ-деплецией (p < 0,05). На +90 и +180 день доля PD-1⁺ клеток CD8⁺ Tnv+scm значимо не отличалось в зависимости от режима профилактики острой РТПХ (рисунок 29).

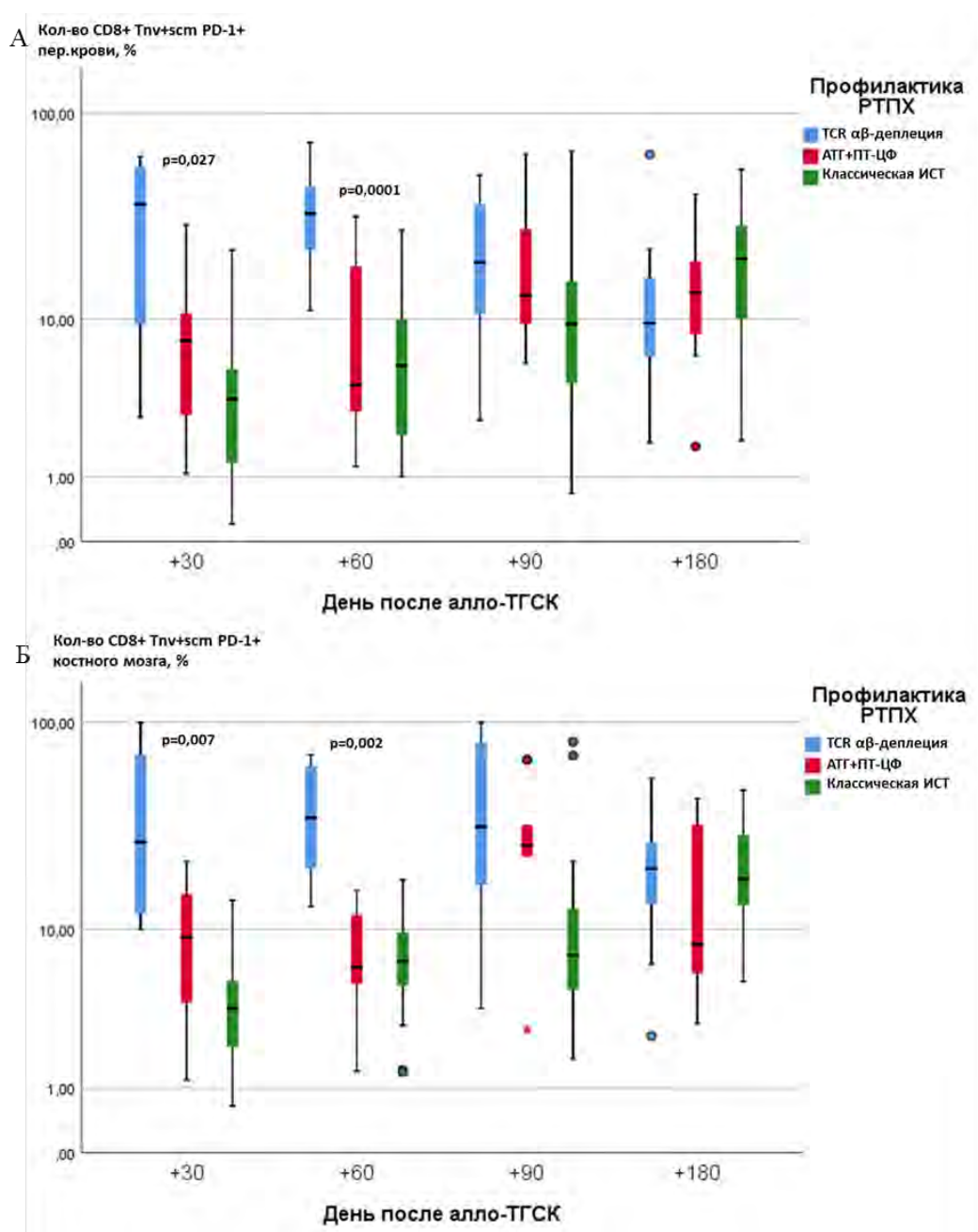


Рисунок 29 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Tnv+scm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD8⁺ Tnv+scm периферической крови, Б – PD-1⁺ CD8⁺ Tnv+scm костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.7.7 Экспрессия PD-1 на CD8⁺ Тсм у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

Доля PD-1⁺ клеток субпопуляции CD8⁺ Тсм периферической крови и костного мозга у пациентов после гапло-ТГСК с TCR αβ-деплецией была значимо больше на +30 и +60 дни ($p < 0,05$). В дальнейшем процентное количество PD-1⁺ CD8⁺ Тсм периферической крови и костного мозга достоверно не отличалось в сравниваемых группах (рисунок 30).

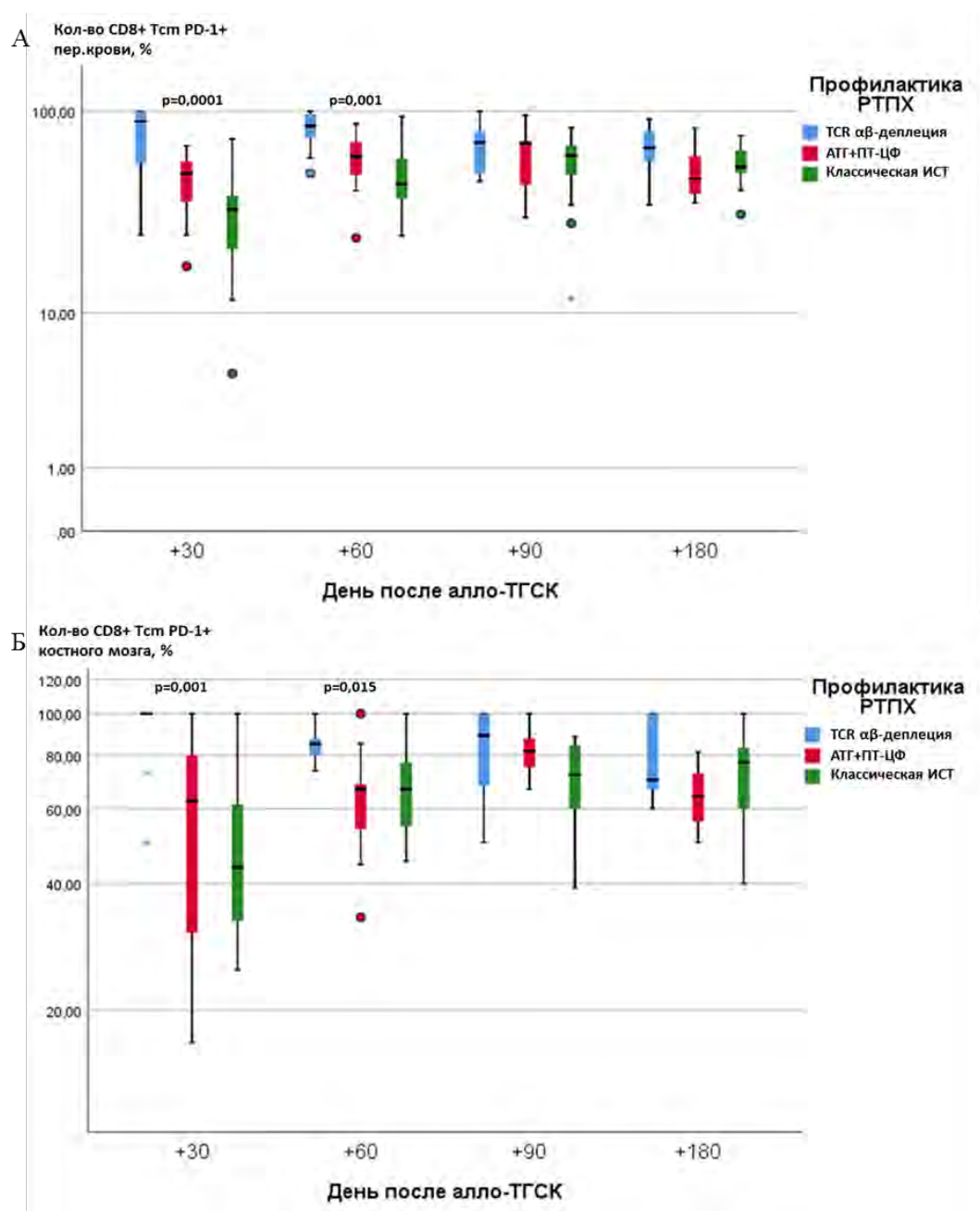


Рисунок 30 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Тсм у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD8⁺ Тсм периферической крови, Б – PD-1⁺ CD8⁺ Тсм костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.7.8 Экспрессия PD-1 на CD8⁺ Ttm у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На +30, +60, +180 дни доля PD-1⁺ клеток CD8⁺ Ttm периферической крови и костного мозга была значимо больше у пациентов после TCR αβ-деплеции в сравнении с АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ (p < 0,05). Доля PD-1⁺ CD8⁺ Ttm у больных после различной профилактики острой РТПХ показана на рисунке 31.

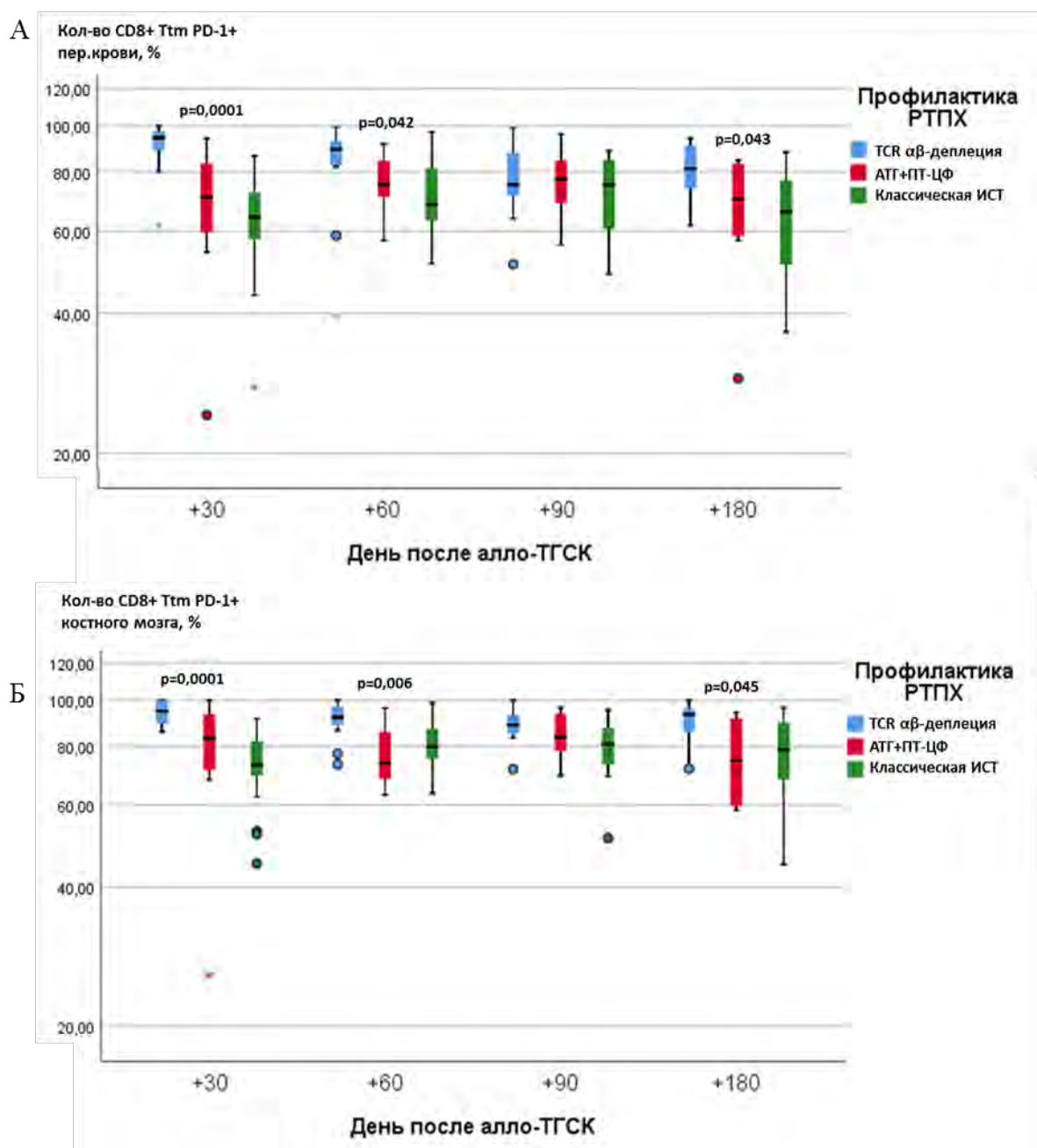


Рисунок 31 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Ttm у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD8⁺ Ttm периферической крови, Б – PD-1⁺ CD8⁺ Ttm костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики РТПХ

3.7.9 Экспрессия PD-1 на CD8⁺ Тем у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ

На всех контрольных сроках доля PD-1⁺ CD8⁺ Тем периферической крови была значимо больше у пациентов после TCR αβ-деплеции в сравнении с АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ (рисунок 32, А). Доля PD-1⁺ CD8⁺ Тем костного мозга была также значимо больше у пациентов после TCR αβ-деплеции на +30, +60, +180 дни (рисунок 32, Б).

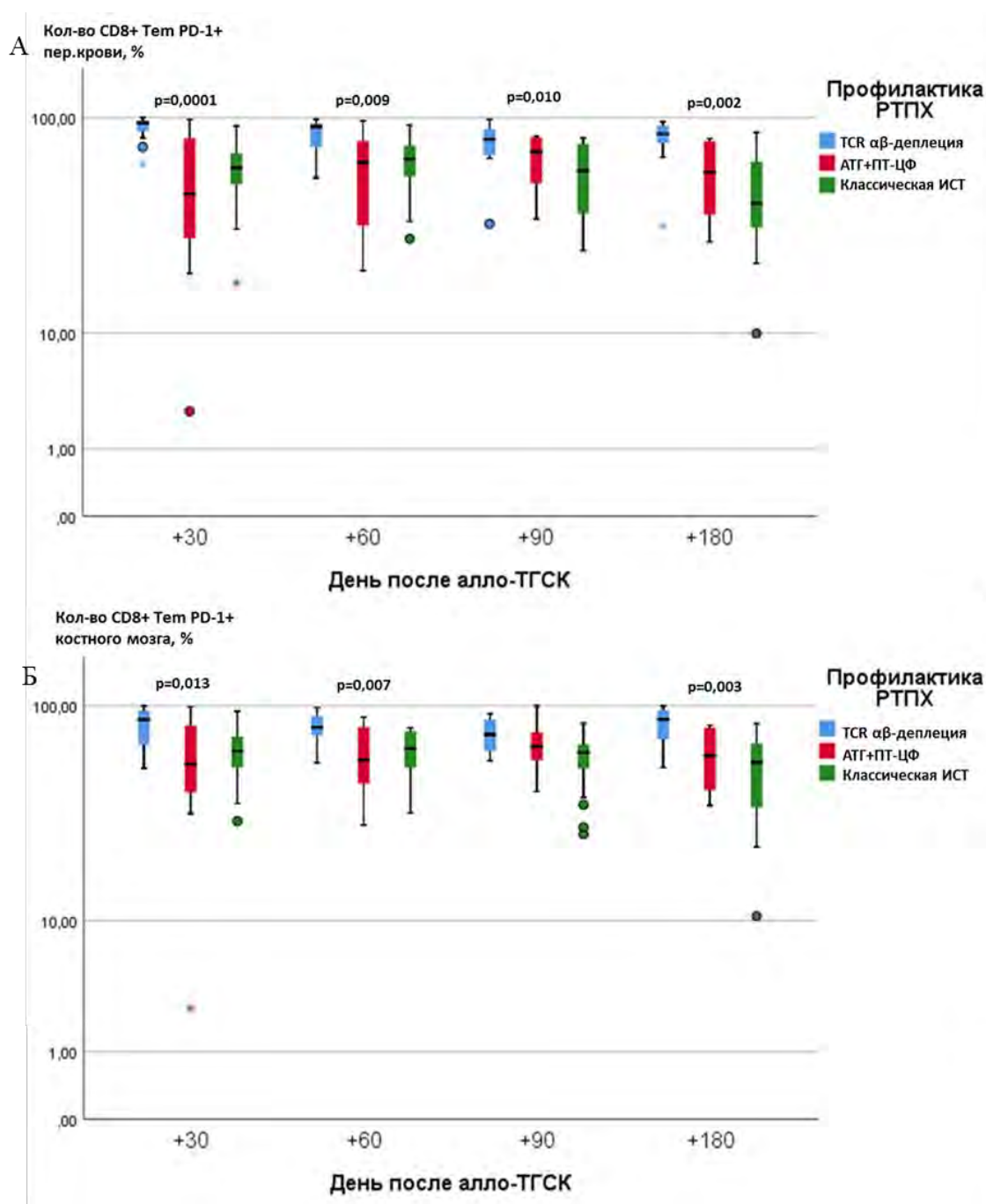


Рисунок 32 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Тем у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD8⁺ Тем периферической крови, Б – PD-1⁺ CD8⁺ Тем костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики острой РТПХ

3.7.10 Экспрессия PD-1 на CD8⁺ Tte у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от профилактики острой РТПХ

На всех контрольных сроках после алло-ТГСК доля PD-1⁺ CD8⁺ Tte периферической крови и костного мозга у пациентов после различной профилактики острой РТПХ значимо не отличалась (рисунок 33).

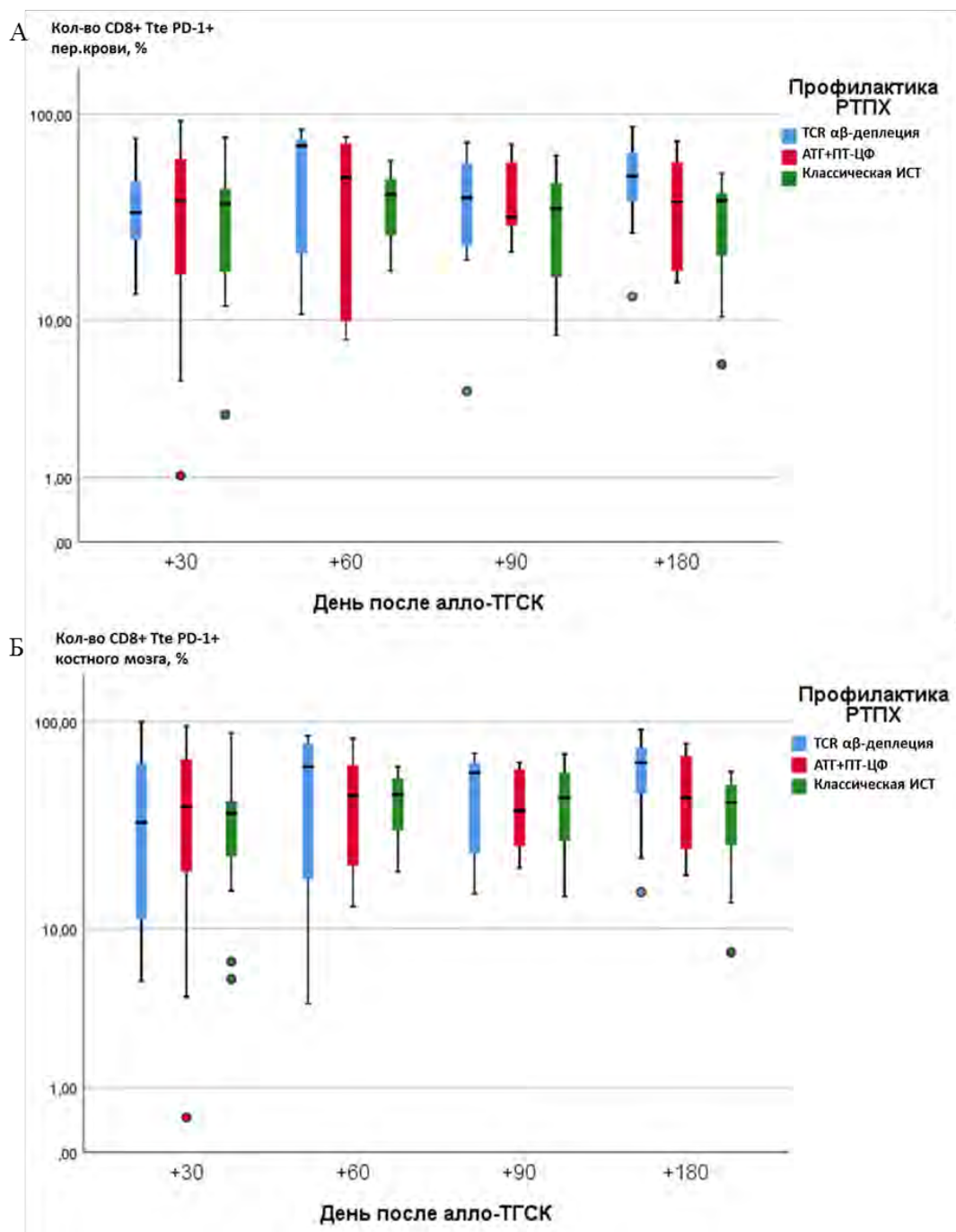


Рисунок 33 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Tte у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. А – PD-1⁺ CD8⁺ Tte периферической крови, Б – PD-1⁺ CD8⁺ Tte костного мозга у пациентов после различных режимов профилактики РТПХ

3.8 Развитие острой РТПХ у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от реконституции Т-клеток памяти

Для того чтобы проанализировать влияние реконституции субпопуляций Т-клеток памяти на развитие острой РТПХ, мы сравнили количество клеток каждой субпопуляции $CD8^+$ и $CD4^+$ T_{nv+scm} , T_{cm} , T_{tm} , T_{em} , T_{te} на +30 день у пациентов, у которых развилась острая РТПХ после +30 дня, и у больных без острой РТПХ.

Было выявлено, что на +30 день абсолютное количество клеток субпопуляций $CD4^+$ Т-клеток, а также $CD4^+$ T_{nv+scm} , T_{cm} , T_{tm} , T_{te} , и $CD8^+$ T_{nv+scm} периферической крови было значимо больше у пациентов с острой РТПХ, которая развилась после +30 дня, в сравнении с больными без РТПХ ($p < 0,05$).

Абсолютное количество $CD4^+$ Т-клеток на +30 день составило 141,08/мкл (56,29–228,06/мкл) у пациентов с острой РТПХ и 22,89/мкл (13,45–54,70/мкл) у больных без РТПХ, $p = 0,002$ (рисунок 34).

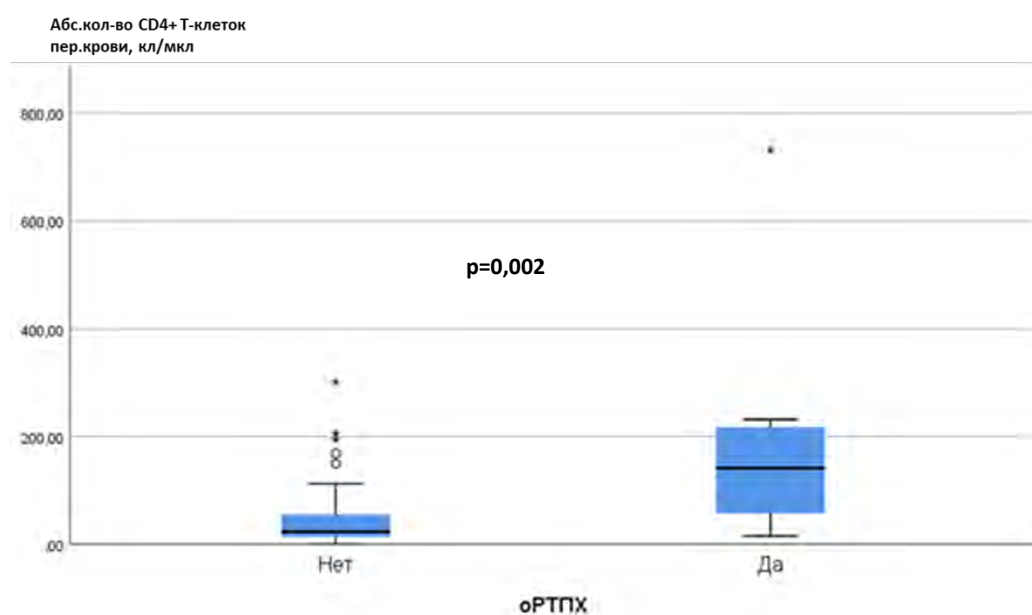


Рисунок 34 – Развитие острой РТПХ в зависимости от количества $CD4^+$ Т-клеток периферической крови на +30 день

Абсолютное количество $CD4^+$ T_{nv+scm} на +30 день также значимо различалось у больных с острой РТПХ и без, что составило 29,34/мкл (2,10–101,92/мкл) и 1,09/мкл (0,27–10,59/мкл), соответственно ($p = 0,005$). Абсолютное количество $CD4^+$ T_{nv+scm} периферической крови у пациентов с острой РТПХ и без показано на рисунке 35.

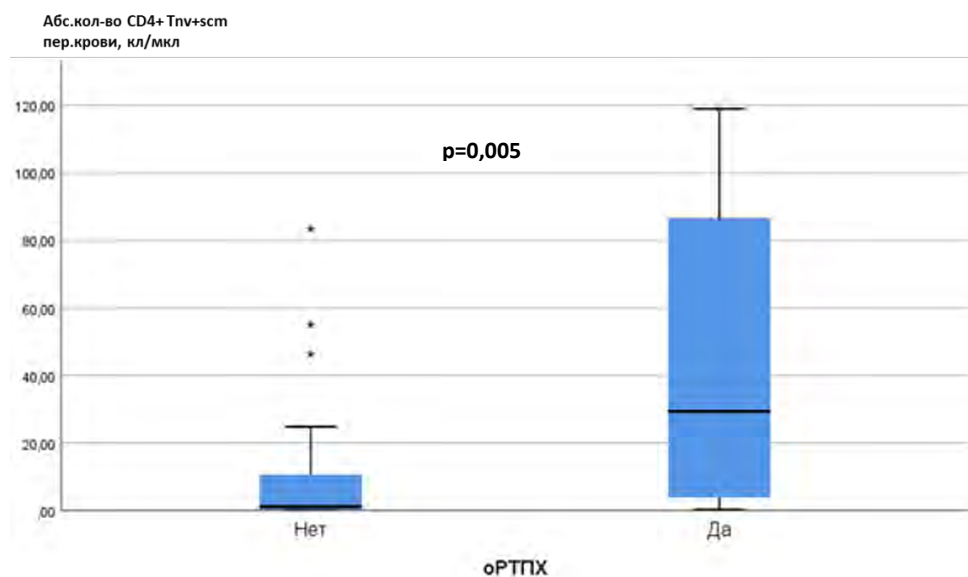


Рисунок 35 – Развитие острой РТПХ в зависимости от количества CD4⁺ Tnv+scm периферической крови на +30 день

Абсолютное количество CD4⁺ Tcm и Ttm периферической крови у пациентов с острой РТПХ, которая развилась после +30 дня, оказалось значимо больше, чем у больных без РТПХ ($p = 0,009$ и $p = 0,004$, соответственно).

Абсолютное количество CD4⁺ Tcm у пациентов с острой РТПХ составило 23,27/мкл (7,95–46,56/мкл) в сравнении с больными без острой РТПХ – 5,57/мкл (1,81–11,62/мкл), $p = 0,009$ (рисунок 36).

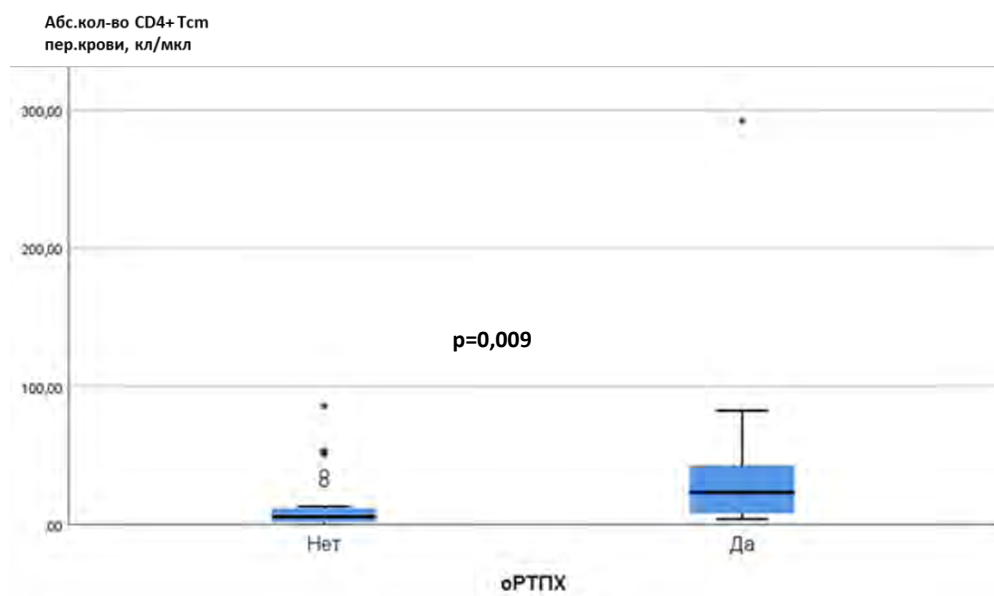


Рисунок 36 – Развитие острой РТПХ в зависимости от количества CD4⁺ Tcm периферической крови на +30 день

Абсолютное количество $CD4^+$ T_h периферической крови у пациентов с острой РТПХ после +30 и без было 45,44/мкл (26,06–67,88/мкл) и 10,52/мкл (6,30–32,48/мкл), соответственно ($p = 0,004$). Абсолютное количество $CD4^+$ T_h периферической крови у пациентов с острой РТПХ и без показано на рисунке 37.

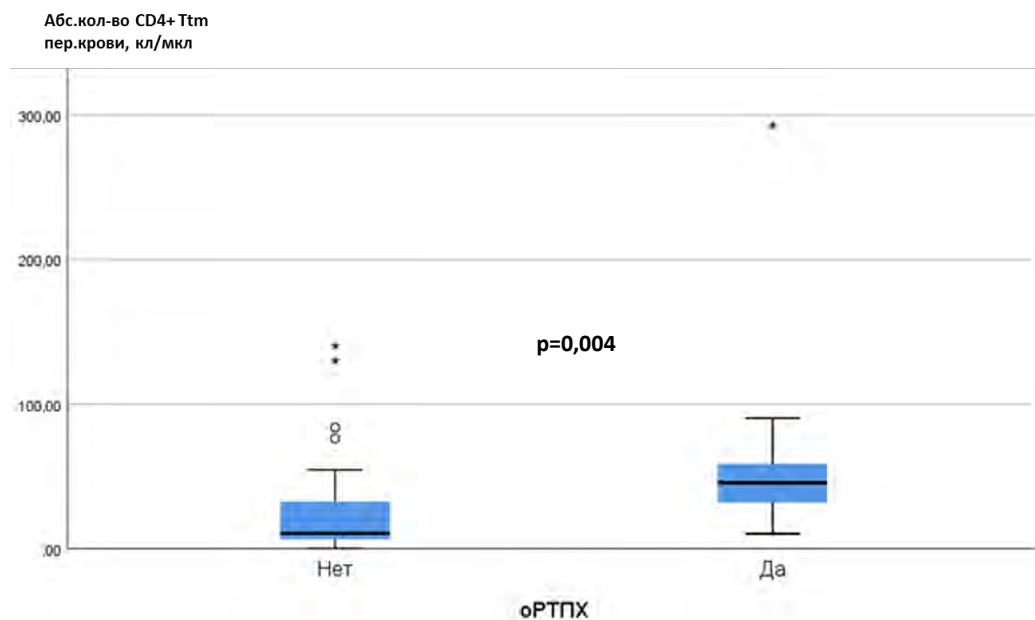


Рисунок 37 – Развитие острой РТПХ в зависимости от количества $CD4^+$ T_h периферической крови на +30 день

Абсолютное количество клеток $CD4^+$ T_{em} периферической крови на +30 день значимо не отличалось у пациентов с острой РТПХ и без, что составило 1,12/мкл (0,40–2,77/мкл) и 0,28/мкл (0,08–1,55/мкл), соответственно ($p = 0,206$).

Абсолютное количество клеток $CD4^+$ T_e периферической крови на +30 день оказалось достоверно больше в группе больных с острой РТПХ – 0,73/мкл (0,19–2,38/мкл), в сравнении с больными без РТПХ – 0,34/мкл (0,06–0,75/мкл) ($p = 0,042$). Абсолютное количество $CD4^+$ T_e периферической крови у пациентов с острой РТПХ и без показано на рисунке 38.

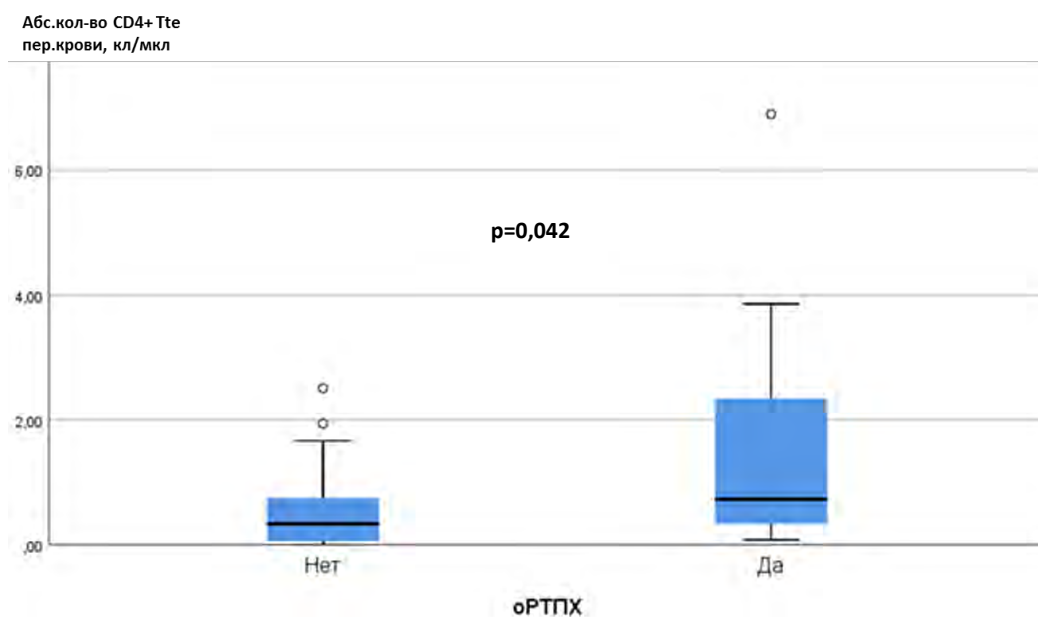
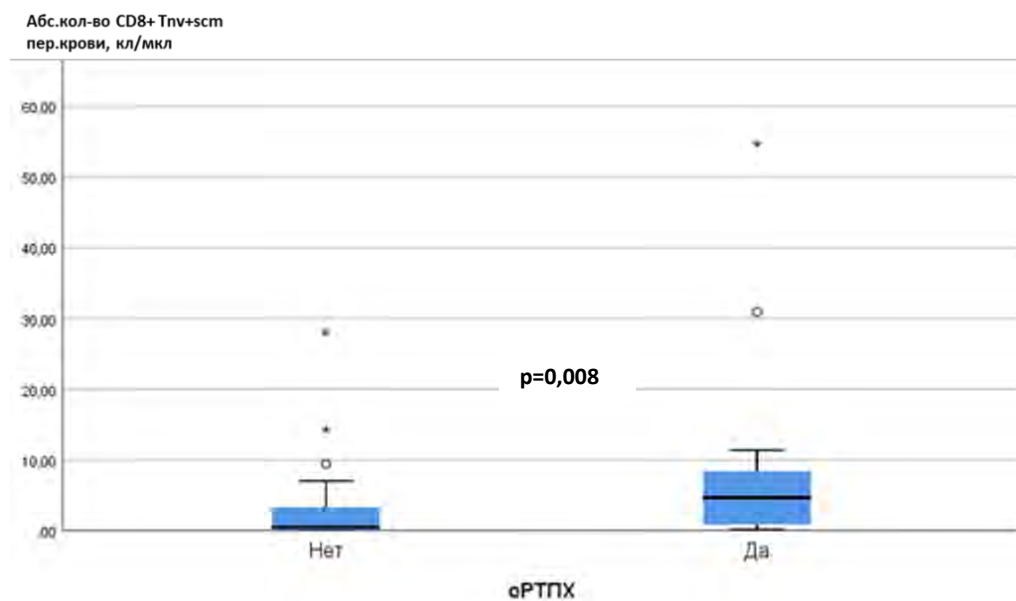


Рисунок 38 – Развитие острой РТПХ в зависимости от количества CD4⁺ T_He периферической крови на +30 день

Абсолютное количество CD8⁺ T-клеток периферической крови на +30 день значимо не отличалось у больных с острой РТПХ и без, что составило 39,65/мкл (16,69–85,55/мкл) и 15,55/мкл (6,17–75,05/мкл), соответственно (p = 0,076).

Абсолютное количество CD8⁺ T_Hv+scm периферической крови у больных с острой РТПХ, которая развилась после +30 дня, и у пациентов без РТПХ значимо отличалось (p = 0,008). У пациентов с острой РТПХ количество клеток CD8⁺ T_Hv+scm на +30 день составило 4,63/мкл (0,84–8,37/мкл) в сравнении с больными без РТПХ – 0,46/мкл (0,11–3,29/мкл) (рисунок 39, А). Учитывая полученные данные о влиянии субпопуляции CD8⁺ T_Hv+scm периферической крови на развитие острой РТПХ, при условии того, что абсолютное количество общих CD8⁺ T-клеток достоверно не отличалось у пациентов с острой РТПХ и без, с помощью ROC-анализа мы определили пороговое значение («cut off») для CD8⁺ T_Hv+scm на +30 день. У пациентов, у которых абсолютное количество CD8⁺ T_Hv+scm в периферической крови на +30 день было больше, чем 1,31 кл/мкл, вероятность острой РТПХ составила 46,2%. В том случае, если количество этих клеток было меньше 1,31 кл/мкл, вероятность острой РТПХ была значимо меньше и составила 12,9% (рисунок 39, Б).

А.



Б.

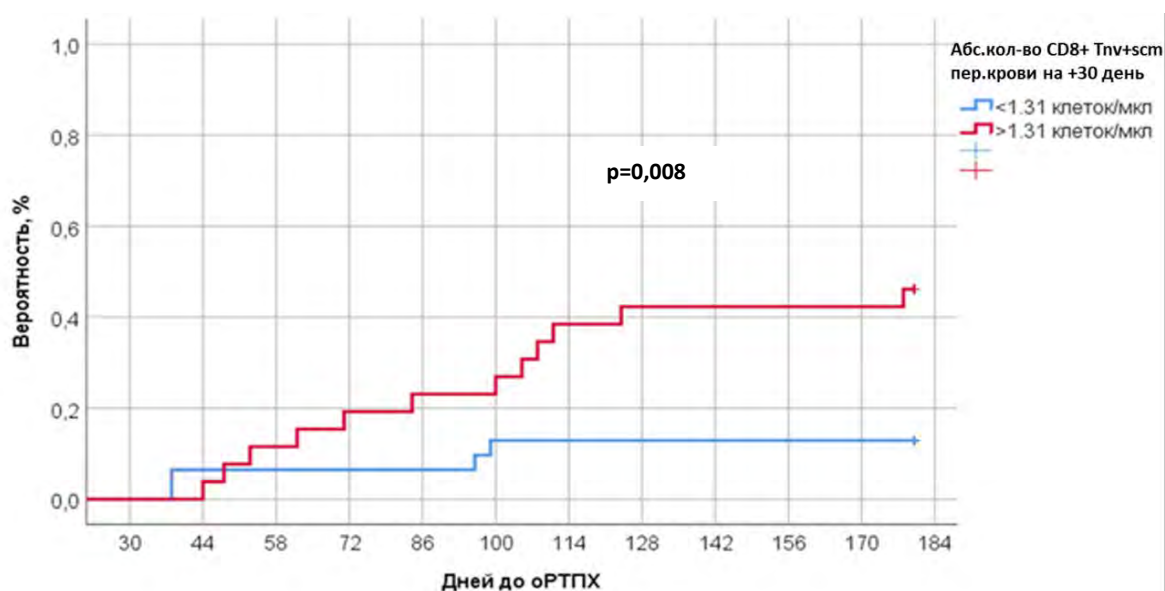


Рисунок 39 – Развитие острой РТПХ у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от количества CD8⁺ Tnv+scm периферической крови на +30 день. А – развитие острой РТПХ в зависимости от абсолютного количества CD8⁺ Tnv+scm периферической крови на + 30 день, Б – вероятность острой РТПХ в зависимости от порогового количества CD8⁺ Tnv+scm в периферической крови пациентов на +30 день

Абсолютное количество $CD8^+$ Tcm, Ttm, Tem и Tte периферической крови на +30 день значимо не отличалось в двух группах ($p > 0,05$).

Количество клеток $CD8^+$, $CD4^+$ субпопуляций Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte костного мозга также достоверно не различалось на +30 день у больных с острой РТПХ и без ($p > 0,05$).

Развитие острой РТПХ в зависимости от реконституции Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга показана в таблице 17.

Таблица 17. Развитие острой РТПХ в зависимости от реконституции Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга у пациентов после алло-ТГСК

Субпопуляция	Количество клеток на +30 день после алло-ТГСК, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)		Значение р
	Есть оРТПХ после +30 дня	Нет оРТПХ после +30 дня	
$CD4^+$ Т-клетки периферической крови, кл/мкл			
$CD4^+$	141,08 (56,29-228,06)	22,89 (13,45-54,70)	0,002
Tnv+scm	29,34 (2,10-101,92)	1,09 (0,27-10,59)	0,005
Tcm	23,27 (7,95-46,56)	5,57 (1,81-11,62)	0,009
Ttm	45,44 (26,06-67,88)	10,52 (6,30-32,48)	0,004
Tem	1,12 (0,40-2,77)	0,28 (0,08-1,55)	0,206
Tte	0,73 (0,19-2,38)	0,34 (0,06-0,75)	0,042
$CD8^+$ Т-клетки периферической крови, кл/мкл			
$CD8^+$	39,65 (16,69-85,55)	15,55 (6,17-75,05)	0,076
Tnv+scm	4,63 (0,84-8,37)	0,46 (0,11-3,29)	0,008
Tcm	0,82 (0,22-1,41)	0,26 (0,17-0,77)	0,092
Ttm	15,16 (4,39-23,45)	7,19 (1,60-14,06)	0,098
Tem	4,61 (0,77-15,05)	5,34 (1,69-28,61)	0,509
Tte	8,06 (3,47-28,24)	3,15 (0,61-15,14)	0,088
$CD4^+$ Т-клетки костного мозга, %			
Tnv+scm	14,31 (2,98-29,38)	7,58 (3,17-13,93)	0,313
Tcm	21,21 (13,58-24,82)	11,89 (7,34-21,41)	0,100
Ttm	52,74 (39,73-72,34)	54,55 (48,33-66,89)	0,722
Tem	2,22 (1,65-3,17)	2,56 (1,43-7,77)	0,593
Tte	1,96 (0,88-3,14)	1,36 (0,92-6,32)	0,885
$CD8^+$ Т-клетки костного мозга, %			
Tnv+scm	5,20 (3,28-10,12)	3,84 (1,44-6,53)	0,398
Tcm	1,49 (0,87-2,96)	1,41 (0,75-3,62)	0,931

Ttm	33,33 (29,52-39,39)	38,88 (28,28-60,63)	0,210
Tem	21,01 (13,91-27,11)	22,82 (13,26-33,22)	0,731
Tte	19,77 (14,88-31,10)	17,74 (8,63-23,91)	0,182

3.9 Развитие острой РТПХ в зависимости от доли PD-1⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК

Для того чтобы проанализировать влияние PD-1⁺ Т-клеток памяти на развитие острой РТПХ, мы сравнили долю клеток, экспрессирующих PD-1, в каждой субпопуляции CD4⁺ и CD8⁺ – Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte, на +30 день в двух группах. Первая группа включила больных, у которых развилась острая РТПХ после +30 дня (в этом анализе не учитывались те больные, у которых острая РТПХ развилась до +30 дня). Вторая группа – это пациенты без РТПХ.

Было выявлено, что количество PD-1⁺ клеток субпопуляций CD4⁺ Tnv+scm и Tcm было значительно меньше у пациентов с острой РТПХ в сравнении с больными без РТПХ ($p = 0,045$ и $p = 0,034$, соответственно). У пациентов, у которых была диагностирована острая РТПХ после +30 дня, количество клеток CD4⁺ Tnv+scm PD-1⁺ периферической крови составило 0,95% (0,37–2,05%) на +30 день, по сравнению с пациентами без РТПХ – 4,02% (1,37–8,20%) ($p = 0,045$). Доля PD-1⁺ CD4⁺ Tnv+scm в периферической крови пациентов на +30 день после алло-ТГСК с острой РТПХ и без показана на рисунке 40.

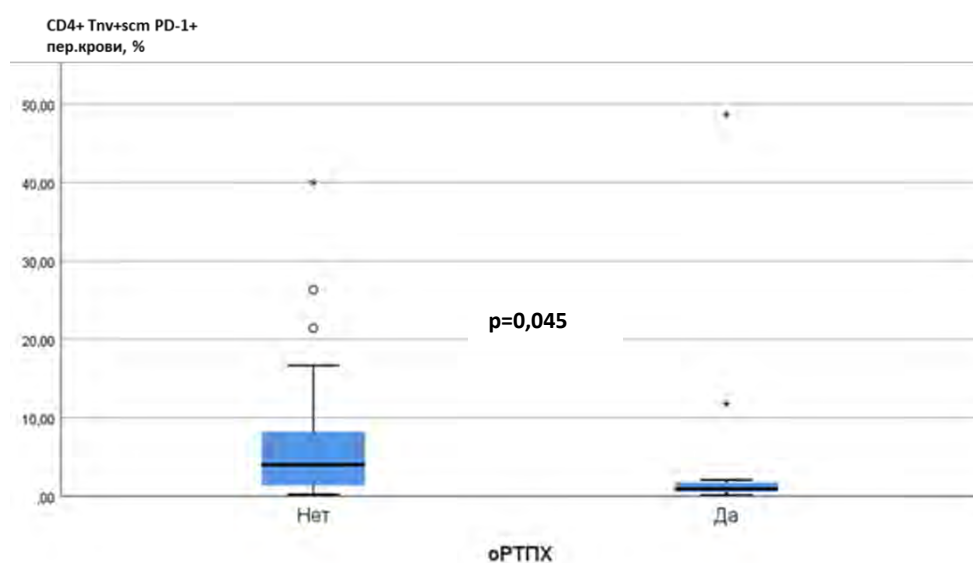


Рисунок 40 – Развитие острой РТПХ в зависимости от доли PD-1⁺ CD4⁺ Tnv+scm в периферической крови пациентов на +30 день

Количество клеток, экспрессирующих PD-1, в субпопуляции CD4⁺ Tcm в периферической крови у пациентов с острой РТПХ после +30 дня составило 27,81% (18,43–61,32%) в сравнении с пациентами без РТПХ – 48,69% (33,98–66,67%) ($p = 0,034$) (рисунок 41).

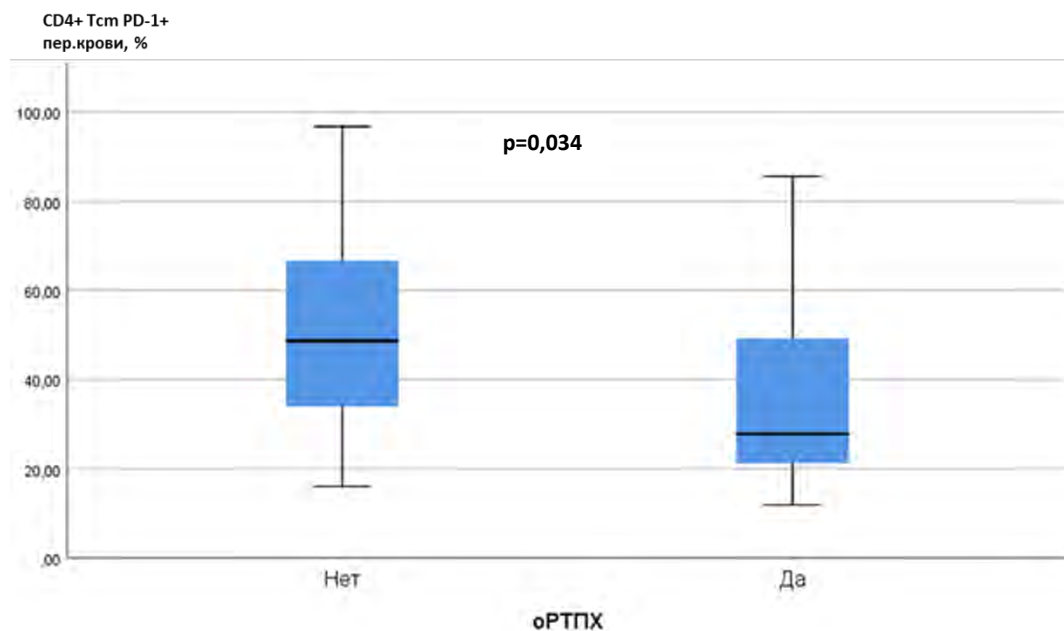


Рисунок 41 – Развитие острой РТПХ в зависимости от доли CD4⁺ Tcm периферической крови, экспрессирующих PD-1, на +30 день

Не было выявлено достоверных различий в количестве PD-1⁺ клеток субпопуляций эффекторного пула CD4⁺ T-клеток (Ttm, Tem, Tte) на +30 день у больных с острой РТПХ и без ($p > 0,05$). Доля PD-1⁺ клеток различных субпопуляций CD8⁺ T-клеток памяти периферической крови достоверно не отличалась в сравниваемых группах ($p > 0,05$).

При исследовании клеточных субпопуляций костного мозга мы также не получили значимых различий в количестве клеток, экспрессирующих PD-1, на +30 день у больных с острой РТПХ и без нее ($p > 0,05$).

Развитие острой РТПХ в зависимости от доли PD-1⁺ T-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК представлено в таблице 18.

Таблица 18. Развитие острой РТПХ в зависимости от доли PD-1⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти у пациентов с острыми лейкозами на +30 день

Субпопуляция	Доля PD-1 ⁺ клеток на +30 день после алло-ТГСК, % медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)		Значение р
	Есть оРТПХ после +30 дня	Нет оРТПХ после +30 дня	
CD4 ⁺ Т-клетки периферической крови			
Tnv+scm PD-1 ⁺	0,95 (0,37-2,05)	4,02 (1,37-8,20)	0,045
Tcm PD-1 ⁺	27,81 (18,43-61,32)	48,69 (33,98-66,67)	0,034
Ttm PD-1 ⁺	46,21 (44,09-80,17)	74,08 (63,40-86,86)	0,098
Tem PD-1 ⁺	49,13 (18,52-73,86)	65,74 (37,38-90,37)	0,138
Tte PD-1 ⁺	4,94 (0,82-22,50)	6,56 (3,19-14,81)	0,374
CD8 ⁺ Т-клетки периферической крови			
Tnv+scm PD-1 ⁺	2,92 (1,65-4,67)	5,78 (2,67-10,71)	0,205
Tcm PD-1 ⁺	38,80 (14,87-50,00)	50,00 (32,22-68,09)	0,105
Ttm PD-1 ⁺	70,35 (61,62-77,25)	72,83 (59,88-89,57)	0,434
Tem PD-1 ⁺	69,06 (50,01-82,55)	64,52 (45,09-91,43)	0,757
Tte PD-1 ⁺	34,00 (17,76-47,08)	34,15 (17,49-48,47)	0,859
CD4 ⁺ Т-клетки костного мозга			
Tnv+scm PD-1 ⁺	1,59 (0,29-4,17)	2,65 (1,32-7,69)	0,335
Tcm PD-1 ⁺	37,50 (20,38-66,67)	54,57 (34,74-74,85)	0,151
Ttm PD-1 ⁺	62,12 (48,16-89,55)	78,67 (66,46-86,21)	0,264
Tem PD-1 ⁺	57,50 (32,89-76,47)	54,71 (42,86-86,00)	0,386
Tte PD-1 ⁺	52,08 (4,17-100,0)	15,97 (3,13-33,33)	0,516
CD8 ⁺ Т-клетки костного мозга			
Tnv+scm PD-1 ⁺	3,28 (1,26-8,50)	5,85 (3,48-14,29)	0,182
Tcm PD-1 ⁺	49,49 (36,36-79,69)	62,50 (36,36-100,00)	0,540
Ttm PD-1 ⁺	81,88 (72,83-86,08)	83,00 (70,43-93,84)	0,611
Tem PD-1 ⁺	58,00 (52,06-72,63)	64,06 (50,00-82,59)	0,475
Tte PD-1 ⁺	36,84 (15,48-42,23)	34,62 (21,73-49,59)	0,816

3.10 Развитие рецидива у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от реконституции Т-клеток памяти

Для того чтобы проанализировать вероятность рецидива острого лейкоза после алло-ТГСК, мы сравнили количество Т-клеток каждой субпопуляции $CD4^+$ и $CD8^+$ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови и костного мозга на +30 день в двух группах больных. Первая группа включила пациентов, у которых развился рецидив острого лейкоза. Вторая группа – это больные в ремиссии основного заболевания после алло-ТГСК. Мы не выявили значимых различий в количестве $CD4^+$, $CD8^+$ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга в сравниваемых группах ($p > 0,05$).

Развитие рецидива острого лейкоза у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от реконституции Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови и костного мозга приведено в таблице 19.

Таблица 19. Развитие рецидива острого лейкоза у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от реконституции различных субпопуляций Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга

Субпопуляция	Количество клеток на +30 день после алло-ТГСК, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)		Значение р
	Есть рецидив	Нет рецидива	
$CD4^+$ Т-клетки периферической крови, кл/мкл			
$CD4^+$	57,62 (16,70-149,22)	40,26 (14,29-87,84)	0,549
Tnv+scm	8,92 (0,58-16,10)	2,49 (0,32-21,22)	0,442
Tcm	8,22 (5,03-30,52)	6,67 (3,99-20,78)	0,807
Ttm	26,06 (10,42-30,81)	25,03 (7,29-46,65)	1,000
Tem	0,40 (0,08-2,31)	0,56 (0,13-1,35)	0,813
Tte	0,38 (0,20-0,55)	0,37 (0,06-1,12)	0,864
$CD8^+$ Т-клетки периферической крови, кл/мкл			
$CD8^+$	23,13 (4,99-36,85)	29,02 (10,58-80,25)	0,332
Tnv+scm	0,55 (0,24-3,34)	1,13 (0,16-5,38)	0,661
Tcm	0,17 (0,10-0,77)	0,33 (0,19-1,25)	0,108
Ttm	5,64 (1,85-12,18)	9,59 (3,17-23,43)	0,323
Tem	4,55 (0,54-10,27)	5,43 (1,20-20,97)	0,273
Tte	3,08 (0,71-13,34)	4,32 (0,90-19,89)	0,558
$CD4^+$ Т-клетки костного мозга, %			

Tnv+scm	7,17 (3,34-21,58)	8,52 (3,08-14,96)	0,988
Tcm	15,15 (11,15-19,13)	14,10 (8,02-24,71)	0,876
Ttm	62,31 (53,59-72,34)	52,98 (46,81-64,74)	0,379
Tem	3,17 (1,06-7,77)	2,22 (1,52-4,77)	0,957
Tte	1,14 (0,92-5,49)	1,85 (0,62-6,32)	0,869
CD8 ⁺ Т-клетки костного мозга,%			
Tnv+scm	2,29 (1,24-4,78)	4,47 (1,96-10,75)	0,073
Tcm	1,13 (0,82-2,18)	1,66 (0,75-3,31)	0,514
Ttm	38,02 (30,17-59,70)	37,23 (27,81-53,79)	0,802
Tem	24,61 (18,42-39,83)	21,32 (12,50-31,17)	0,233
Tte	14,50 (8,63-27,27)	18,40 (10,71-27,62)	0,622

3.11 Развитие рецидива острого лейкоза у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от доли PD-1⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти

Для того чтобы проанализировать развитие рецидива у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК, мы сравнили долю клеток, экспрессирующих PD-1, в каждой субпопуляции CD4⁺ и CD8⁺ – Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови и костного мозга, на +30 день в двух группах. Первая группа – это пациенты, у которых развился рецидив острого лейкоза после алло-ТГСК, вторая – больные в ремиссии заболевания.

Развитие рецидива острого лейкоза у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от доли PD-1⁺ Т-клеток представлено в таблице 20.

Таблица 20. Развитие рецидива острого лейкоза после +30 дня алло-ТГСК в зависимости от доли PD-1⁺ Т-клеток на + 30 день

Субпопуляция	Доля PD-1 ⁺ клеток на +30 день после алло-ТГСК, % медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)		Значение р
	Есть рецидив	Нет рецидива	
CD4 ⁺ Т-клетки периферической крови			
Tnv+scm PD-1 ⁺	2,69 (1,49-4,03)	2,77 (0,95-10,53)	0,668
Tcm PD-1 ⁺	28,71 (17,77-62,94)	45,83 (33,50-65,90)	0,255
Ttm PD-1 ⁺	53,92 (40,04-74,08)	71,58 (60,39-86,94)	0,154

Tem PD-1 ⁺	81,36 (12,81-95,18)	54,95 (30,56-82,76)	0,771
Tte PD-1 ⁺	14,58 (1,59-14,81)	6,22 (2,18-16,67)	0,801
CD8 ⁺ Т-клетки периферической крови			
Tnv+scm PD-1 ⁺	4,34 (2,82-7,73)	4,24 (1,65-10,71)	0,857
Tcm PD-1 ⁺	39,69 (24,14-59,43)	41,87 (33,33-64,71)	0,604
Ttm PD-1 ⁺	61,62 (57,72-65,62)	76,26 (61,99-89,98)	0,043
Tem PD-1 ⁺	54,46 (31,09-79,07)	67,76 (50,01-91,66)	0,199
Tte PD-1 ⁺	15,87 (11,77-30,72)	38,15 (21,55-50,42)	0,008
CD4 ⁺ Т-клетки костного мозга			
Tnv+scm PD-1 ⁺	2,41 (1,42-5,00)	2,46 (0,73-6,25)	1,000
Tcm PD-1 ⁺	45,45 (31,08-74,85)	49,21 (34,62-70,40)	0,884
Ttm PD-1 ⁺	79,17 (55,67-89,41)	76,80 (59,30-85,72)	0,990
Tem PD-1 ⁺	74,19 (46,43-82,79)	53,87 (38,06-76,47)	0,445
Tte PD-1 ⁺	5,10 (3,49-37,62)	18,18 (4,17-33,33)	0,635
CD8 ⁺ Т-клетки костного мозга			
Tnv+scm PD-1 ⁺	5,03 (2,96-5,17)	5,88 (2,34-14,29)	0,380
Tcm PD-1 ⁺	70,95 (48,95-100,0)	59,78 (33,33-91,67)	0,421
Ttm PD-1 ⁺	81,86 (69,55-85,71)	82,75 (71,21-91,82)	0,448
Tem PD-1 ⁺	53,78 (34,01-59,36)	67,35 (52,50-82,59)	0,023
Tte PD-1 ⁺	23,06 (7,49-39,31)	40,00 (22,50-51,00)	0,156

Как видно из таблицы, доля PD-1⁺ клеток CD8⁺ Ttm была значимо меньше у больных, у которых развился рецидив после алло-ТГСК, в сравнении с пациентами в ремиссии заболевания ($p = 0,043$). Также доля PD-1⁺ CD8⁺ Tte периферической крови на +30 день у больных с рецидивом, который развивался после +30 дня алло-ТГСК, была достоверно меньше в сравнении с больными в ремиссии острого лейкоза после алло-ТГСК ($p = 0,008$). Доля PD-1⁺ Т-клеток субпопуляций CD8⁺ Ttm и CD8⁺ Tte в периферической крови больных с рецидивом и без представлена на рисунках 42 и 43.

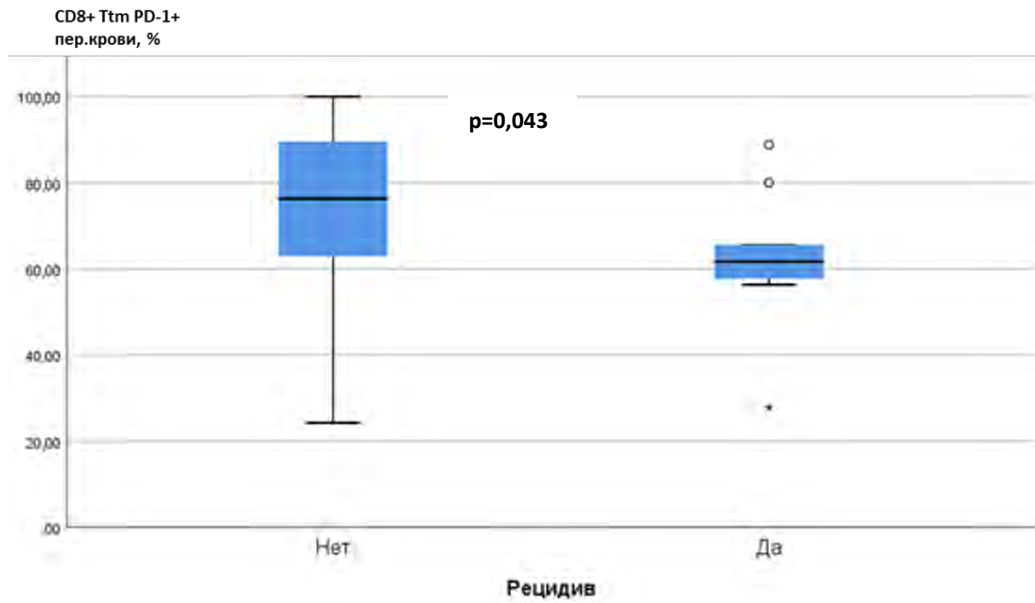


Рисунок 42 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Ttm в периферической крови пациентов на + 30 день с рецидивом острого лейкоза после +30 дня алло-ТГСК и без рецидива

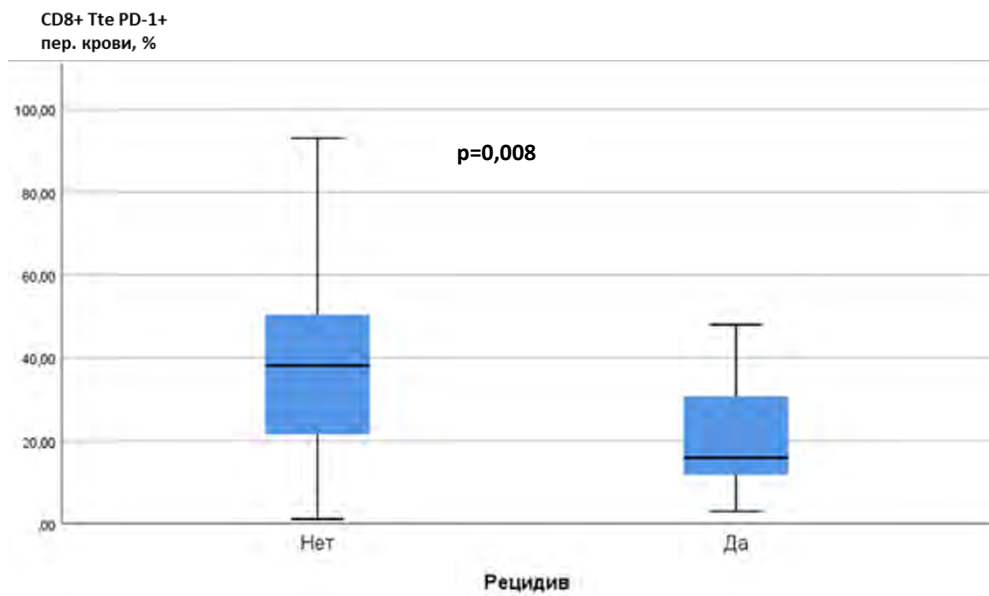


Рисунок 43 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Tte в периферической крови пациентов на + 30 день с рецидивом острого лейкоза после +30 дня алло-ТГСК и без рецидива

Количество PD-1⁺ клеток субпопуляций CD8⁺ Tnv+scm, Tcm, Tem и CD4⁺ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови значимо не отличалось у больных с рецидивом и без после алло-ТГСК ($p > 0,05$).

При исследовании PD-1⁺ клеток CD4⁺ субпопуляции клеток памяти костного мозга у больных на +30 день после алло-ТГСК мы не выявили достоверных различий у пациентов с рецидивом заболевания и без ($p > 0,05$).

Количество CD8⁺ Т-клеток субпопуляций Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tte костного мозга, экспрессирующих PD-1, также значимо не отличалось в сравниваемых группах больных ($p > 0,05$).

Количество CD8⁺ Tem PD-1⁺ костного мозга у пациентов с рецидивом после алло-ТГСК оказалось меньше, чем у больных без рецидива острого лейкоза, что составило 53,78% (34,01–59,36%) и 67,35% (52,50–82,59%), соответственно ($p = 0,023$). Доля PD-1⁺ CD8⁺ Tem в костном мозге пациентов с рецидивом и без после алло-ТГСК показана на рисунке 44.

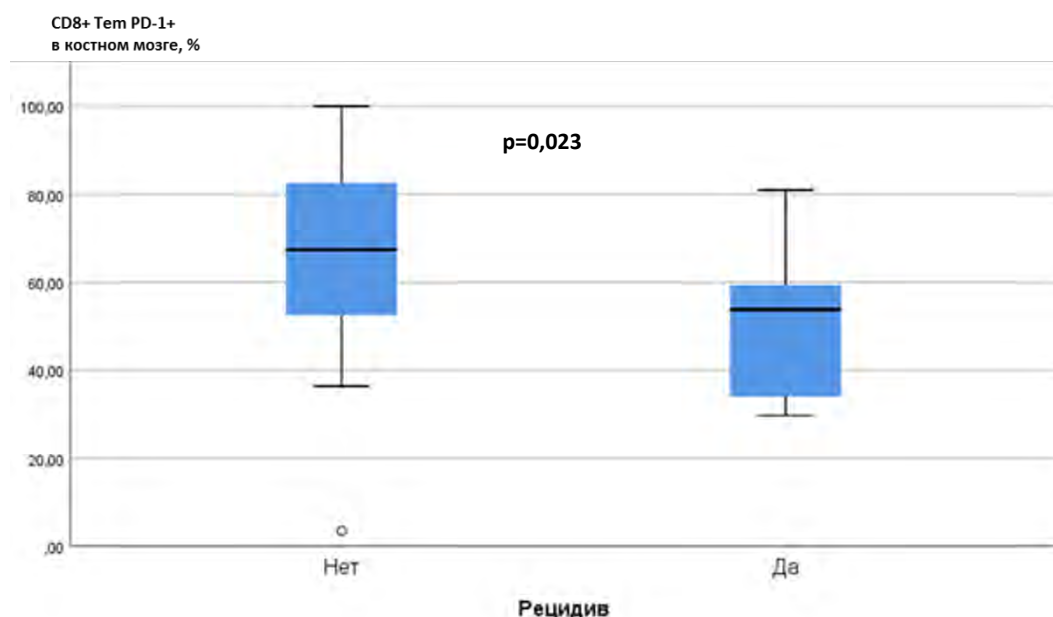


Рисунок 44 – Доля PD-1⁺ CD8⁺ Tem в костном мозге пациентов на + 30 день с рецидивом после +30 дня алло-ТГСК и без рецидива

3.12 Восстановление субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК с классической профилактикой РТПХ в зависимости от источника трансплантата

Мы проанализировали восстановление $CD8^+$ Т-клеток субпопуляций $T_{nv}+scm$, T_{cm} , T_{tm} , T_{em} , T_{te} периферической крови и костного мозга у пациентов, у которых использовали классический режим ИСТ, в зависимости от источника трансплантата. Для этого все пациенты ($n = 32$) были разделены на две группы. Первая группа ($n = 19$) – это больные, у которых в качестве источника трансплантата использовали костный мозг (КМ). Вторая группа ($n = 13$) – реципиенты периферических стволовых клеток (СКК).

Восстановление числа лейкоцитов периферической крови у реципиентов СКК было констатировано на +16 (13–30) день, у реципиентов КМ – на +22 (16–46) день.

3.12.1 Реконституция $CD8^+$ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови у пациентов после классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

Абсолютное количество $CD8^+$ Т-клеток памяти периферической крови больных в зависимости от источника трансплантата суммировано в таблице 21.

Таблица 21. Абсолютное количество $CD8^+$ Т-клеток периферической крови у пациентов после классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

День после алло-ТГСК	Субпопуляция $CD8^+$ Т-клеток пер. крови	Источник трансплантата	Количество клеток в мкл, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)	Значение р
+30	$T_{nv}+scm$	КМ	3,28 (0,76-4,91)	0,005
		СКК	5,93 (3,42-14,25)	
	T_{cm}	КМ	0,61 (0,18-0,99)	0,022
		СКК	2,21 (0,45-3,67)	
	T_{tm}	КМ	8,06 (3,15-20,21)	0,019
		СКК	28,15 (10,70-75,04)	
	T_{em}	КМ	5,75 (1,29-21,18)	0,224
		СКК	12,39 (3,90-62,44)	

	Tte	KM	8,16 (2,99-35,35)	0,448	
		CKK	11,75 (6,97-39,05)		
+60	Tnv+scm	KM	2,57 (1,86-3,27)	0,094	
		CKK	4,52 (3,06-8,48)		
	Tcm	KM	0,77 (0,36-1,12)	0,048	
		CKK	1,90 (0,99-3,77)		
	Ttm	KM	18,89 (11,25-32,04)	0,350	
		CKK	46,01 (5,92-103,13)		
	Tem	KM	36,06 (15,75-77,58)	0,720	
		CKK	44,38 (7,19-168,31)		
	Tte	KM	22,19 (12,62-55,89)	0,650	
		CKK	25,98 (5,09-133,01)		
	+90	Tnv+scm	KM	4,23 (2,50-9,01)	0,190
			CKK	5,90 (4,12-12,33)	
Tcm		KM	0,77 (0,67-4,75)	0,134	
		CKK	3,20 (1,56-7,77)		
Ttm		KM	51,60 (27,54-115,87)	0,740	
		CKK	55,92 (42,93-107,91)		
Tem		KM	143,83 (49,14-186,26)	0,976	
		CKK	136,89 (22,85-282,93)		
Tte		KM	70,22 (13,53-147,73)	0,260	
		CKK	134,87 (37,55-255,94)		
+180		Tnv+scm	KM	7,12 (2,24-11,15)	0,181
			CKK	13,89 (6,96-22,29)	
	Tcm	KM	1,86 (0,31-3,70)	0,368	
		CKK	3,42 (1,47-7,77)		
	Ttm	KM	66,72 (30,91-85,17)	0,368	
		CKK	93,55 (59,58-126,92)		
	Tem	KM	204,12 (95,85-359,40)	0,562	
		CKK	264,67 (218,79-377,18)		
	Tte	KM	74,74 (42,68-163,91)	0,147	
		CKK	174,43 (115,46-320,31)		

Как видно из таблицы 21, на +30 день абсолютное количество $CD8^+$ Tnv+scm, Tcm, Ttm периферической крови было значимо больше у реципиентов СКК, в сравнении с реципиентами КМ (рисунок 45).

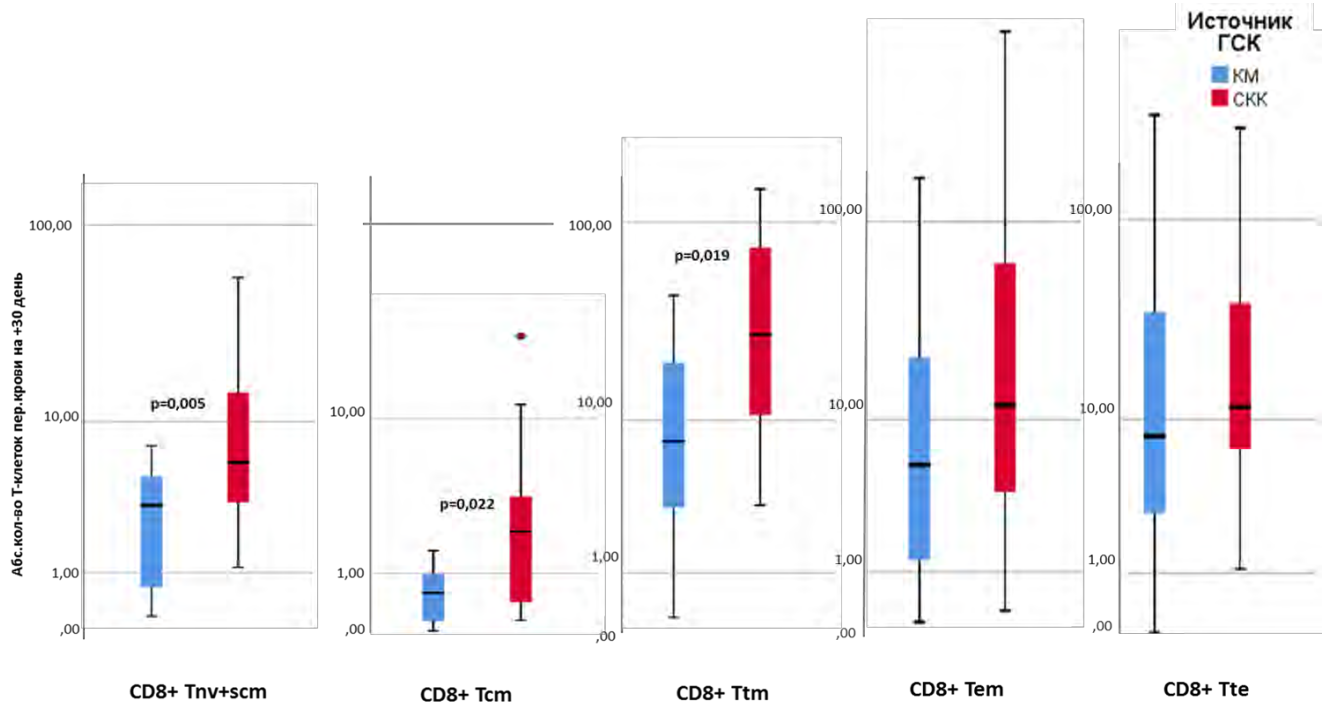


Рисунок 45 – Абсолютное количество $CD8^+$ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови у пациентов на +30 день алло-ТГСК и классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

3.12.2 Реконституция различных субпопуляций $CD8^+$ Т-клеток памяти костного мозга у пациентов после классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

На +30 день количество $CD8^+$ Tnv+scm костного мозга у пациентов после классической ИСТ, у которых в качестве источника трансплантата использовали СКК, было значимо больше в сравнении с реципиентами КМ ($p = 0,044$) – 10,12% (3,84–18,83%) и 4,14% (3,28–6,49%), соответственно.

На +30 день количество $CD8^+$ Tcm костного мозга достоверно не отличалось у реципиентов СКК и КМ ($p = 0,470$).

На +30 день количество $CD8^+$ Ttm было значимо больше у пациентов, получивших СКК в качестве источника трансплантата, в сравнении с реципиентами КМ ($p = 0,040$): 37,23% (32,10–45,83%) и 31,97% (27,81–36,47%) в соответствующих группах.

Количество $CD8^+$ Tem костного мозга у реципиентов СКК и КМ на +30 день достоверно не отличалось в зависимости от источника трансплантата ($p = 0,189$).

Количество $CD8^+$ Tte костного мозга на +30 день значимо различалось в сравниваемых группах ($p = 0,016$). В случае использования в качестве источника трансплантата СКК количество клеток $CD8^+$ Tte костного мозга составило 18,72% (14,88–25,43%), в случае использования КМ – 28,86% (19,77–35,73%).

Количество $CD8^+$ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти костного мозга у пациентов на +30 день после алло-ТГСК и классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата показано на рисунке 46.

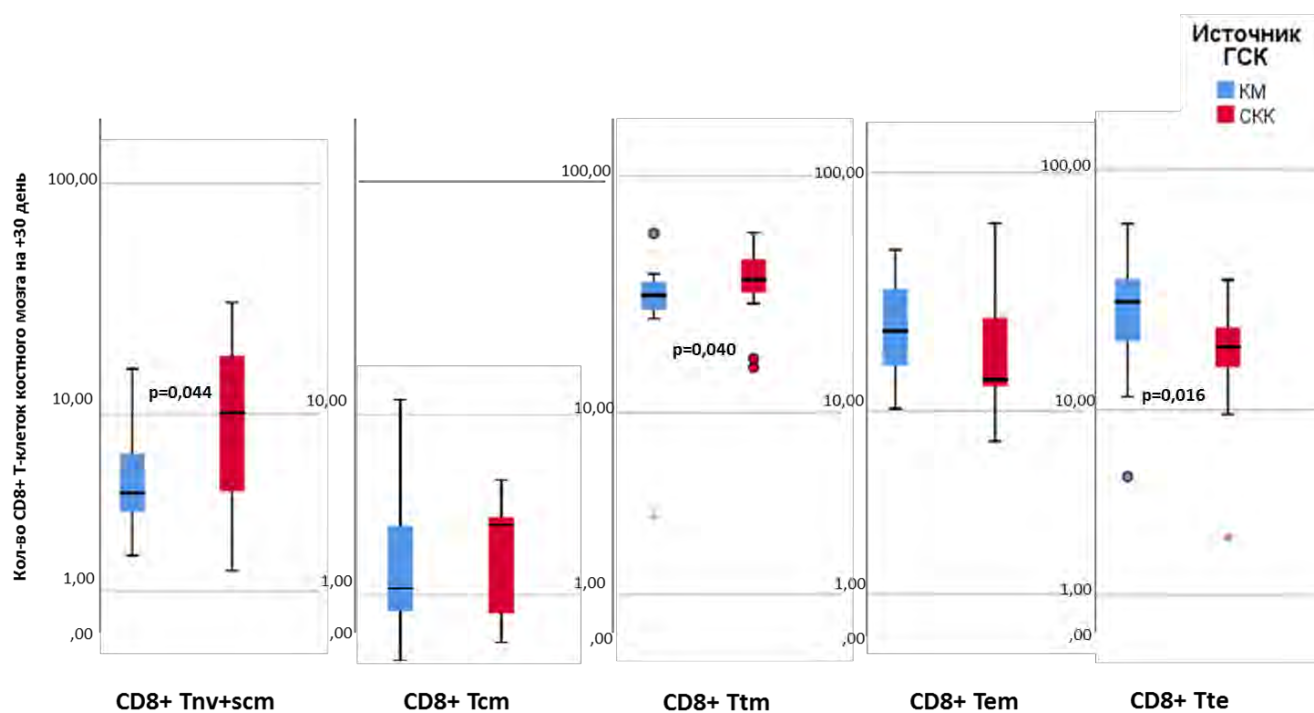


Рисунок 46 – Количество $CD8^+$ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte костного мозга у пациентов на +30 день после алло-ТГСК и классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

На +60, +90, +180 день реконституция $CD8^+$ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte костного мозга значимо не отличалась в зависимости от источника трансплантата ($p > 0,05$).

Восстановление различных субпопуляций $CD8^+$ Т-клеток памяти костного мозга в зависимости от источника трансплантата представлено в таблице 22.

Таблица 22. Реконституция CD8⁺ Т-клеток памяти костного мозга у пациентов после алло-ТГСК и классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

День после алло-ТГСК	Субпопуляция CD8 ⁺ Т-клеток костного мозга	Источник трансплантата	Количество клеток, % медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)	Значение р	
+30	Tnv+scm	КМ	4,14 (3,28-6,49)	0,044	
		СКК	10,12 (3,84-18,83)		
	Tcm	КМ	1,13 (0,71-2,83)	0,470	
		СКК	2,87 (0,60-3,31)		
	Ttm	КМ	31,97 (27,81-36,47)	0,040	
		СКК	37,23 (32,10-45,83)		
	Tem	КМ	22,19 (15,76-33,22)	0,189	
		СКК	13,72 (12,50-25,45)		
	Tte	КМ	28,86 (19,77-35,73)	0,016	
		СКК	18,72 (14,88-25,43)		
	+60	Tnv+scm	КМ	3,01 (1,12-6,67)	0,964
			СКК	3,15 (1,10-6,93)	
Tcm		КМ	1,04 (0,24-1,54)	0,363	
		СКК	1,62 (0,31-2,37)		
Ttm		КМ	27,14 (15,00-35,54)	0,586	
		СКК	28,18 (19,68-48,54)		
Tem		КМ	35,93 (16,19-47,69)	0,525	
		СКК	27,93 (16,43-37,90)		
Tte		КМ	24,24 (14,61-33,26)	0,458	
		СКК	16,38 (13,97-26,01)		
+90		Tnv+scm	КМ	1,80 (0,99-2,42)	0,693
			СКК	2,21 (1,51-5,66)	
	Tcm	КМ	0,65 (0,23-1,03)	0,228	
		СКК	1,10 (0,33-2,79)		
	Ttm	КМ	30,04 (17,77-37,19)	0,955	
		СКК	35,01 (15,63-35,71)		
	Tem	КМ	45,45 (22,73-49,39)	0,093	
		СКК	25,28 (12,43-36,98)		
	Tte	КМ	15,84 (12,91-26,05)	0,910	

		СКК	16,71 (9,86-29,23)	
+180	Tnv+scm	КМ	1,93 (0,37-3,15)	1,000
		СКК	1,33 (1,07-2,60)	
	Tcm	КМ	0,90 (0,44-0,96)	1,000
		СКК	0,73 (0,42-1,24)	
	Ttm	КМ	18,49 (15,01-24,59)	0,220
		СКК	23,37 (19,66-33,82)	
	Tem	КМ	43,03 (37,15-55,24)	0,220
		СКК	35,19 (28,25-41,34)	
	Tte	КМ	22,19 (19,79-22,70)	0,958
		СКК	20,91 (11,60-28,48)	

3.12.3 Реконституция CD4⁺ Т-клеток различных субпопуляций клеток памяти периферической крови у пациентов после классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

Мы не выявили значимых различий в восстановлении CD4⁺ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови у пациентов после классической ИСТ в зависимости от использования СКК или КМ в качестве источника трансплантата.

Результаты представлены в таблице 23.

Таблица 23. Реконституция CD4⁺ Т-клеток памяти периферической крови у пациентов после классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

День после алло-ТГСК	Субпопуляция CD4 ⁺ Т-клеток пер. крови	Источник трансплантата	Количество клеток в мкл, медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)	Значение р
+30	Tnv+scm	КМ	11,01 (4,16-59,59)	0,314
		СКК	24,77 (10,59-55,00)	
	Tcm	КМ	9,67 (6,67-30,52)	0,173
		СКК	39,35 (6,35-82,43)	
	Ttm	КМ	35,12 (26,06-49,12)	0,072
		СКК	67,88 (33,00-90,27)	

	Tem	KM	1,13 (0,51-1,84)	0,387	
		CKK	1,35 (1,03-2,77)		
	Tte	KM	0,59 (0,20-1,51)	0,387	
		CKK	1,16 (0,48-2,29)		
+60	Tnv+scm	KM	12,95 (3,59-30,13)	0,918	
		CKK	17,03 (3,44-30,30)		
	Tcm	KM	13,38 (9,18-19,72)	0,152	
		CKK	36,81 (6,24-55,84)		
	Ttm	KM	41,90 (34,23-66,18)	0,654	
		CKK	48,66 (26,53-149,09)		
	Tem	KM	1,89 (1,12-6,47)	0,809	
		CKK	1,26 (0,41-11,91)		
	Tte	KM	0,48 (0,22-0,62)	0,705	
		CKK	0,46 (0,09-1,65)		
	+90	Tnv+scm	KM	7,22 (3,21-52,30)	0,321
			CKK	18,97 (13,09-24,13)	
Tcm		KM	31,97 (18,45-47,07)	0,370	
		CKK	41,81 (32,79-69,45)		
Ttm		KM	64,27 (37,92-163,54)	0,541	
		CKK	130,18 (63,37-159,32)		
Tem		KM	6,62 (2,50-15,61)	0,963	
		CKK	8,17 (1,35-20,23)		
Tte		KM	0,47 (0,26-1,50)	1,000	
		CKK	0,46 (0,22-1,59)		
+180		Tnv+scm	KM	12,54 (2,77-24,04)	0,181
			CKK	26,32 (20,08-60,79)	
	Tcm	KM	25,56 (5,69-51,29)	0,073	
		CKK	56,94 (42,09-75,18)		
	Ttm	KM	97,97 (62,96-230,20)	0,368	
		CKK	128,61 (112,06-143,18)		
	Tem	KM	4,55 (3,33-33,06)	0,492	
		CKK	18,41 (5,13-44,66)		
	Tte	KM	0,27 (0,17-2,76)	0,181	
		CKK	1,37 (0,89-5,31)		

3.12.4 Реконституция различных субпопуляций CD4⁺ Т-клеток памяти костного мозга у пациентов после алло-ТГСК и классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

Не было выявлено значимых различий в восстановлении CD4⁺ Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte костного мозга у пациентов после классической ИСТ в зависимости от использования СКК или КМ в качестве источника трансплантата.

Результаты представлены в таблице 24.

Таблица 24. Реконституция CD4⁺ Т-клеток памяти костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и классической ИСТ в зависимости от источника трансплантата

День после алло-ТГСК	Субпопуляция CD4 ⁺ Т-клеток костного мозга	Источник трансплантата	Количество клеток, % медиана (перцентиль 25 – перцентиль 75)	Значение р
+30	Tnv+scm	КМ	21,19 (9,09-29,38)	0,756
		СКК	13,93 (7,95-25,48)	
	Tcm	КМ	12,88 (10,46-21,21)	0,251
		СКК	19,69 (10,29-24,82)	
	Ttm	КМ	52,31 (39,73-60,91)	0,863
		СКК	52,74 (42,45-66,89)	
	Tem	КМ	2,29 (1,65-4,41)	0,705
		СКК	2,18 (1,43-4,77)	
Tte	КМ	1,14 (0,92-3,23)	0,853	
	СКК	1,60 (0,55-2,06)		
+60	Tnv+scm	КМ	10,08 (6,99-37,52)	0,863
		СКК	12,41 (6,65-18,16)	
	Tcm	КМ	12,94 (6,12-15,83)	0,426
		СКК	13,19 (10,47-18,68)	
	Ttm	КМ	54,86 (36,53-63,96)	0,605
		СКК	58,94 (54,21-66,31)	
	Tem	КМ	2,44 (1,80-8,78)	0,863
		СКК	3,29 (1,58-7,32)	
Tte	КМ	1,08 (0,38-1,97)	0,882	
	СКК	1,55 (0,32-1,94)		

+90	Tnv+scm	KM	15,78 (2,29-29,12)	0,897
		CKK	10,52 (7,58-11,03)	
	Tcm	KM	10,83 (8,48-22,15)	0,573
		CKK	12,00 (5,75-19,09)	
	Ttm	KM	49,94 (41,67-69,08)	0,633
		CKK	58,26 (46,40-72,02)	
	Tem	KM	3,21 (2,41-11,80)	1,000
		CKK	5,48 (1,78-13,29)	
	Tte	KM	0,98 (0,31-1,91)	0,515
		CKK	0,57 (0,16-1,39)	
+180	Tnv+scm	KM	4,91 (0,91-12,70)	0,428
		CKK	7,37 (5,59-16,53)	
	Tcm	KM	10,46 (4,89-13,64)	0,368
		CKK	13,93 (7,48-17,20)	
	Ttm	KM	63,17 (41,10-71,75)	1,000
		CKK	61,78 (47,25-69,29)	
	Tem	KM	5,46 (3,16-15,51)	0,875
		CKK	7,44 (2,09-11,14)	
	Tte	KM	1,33 (0,23-3,08)	0,635
		CKK	1,37 (0,82-2,45)	

Глава 4. Обсуждение

Острая РТПХ является ведущей проблемой у пациентов после алло-ТГСК. В настоящее время все чаще используют альтернативные режимы профилактики острой РТПХ (ПТ-ЦФ на +3, +4 день, *ex vivo* TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплегция) при алло-ТГСК от частично совместимых или гаплоидентичных доноров. Считается, что выполнение таких трансплантаций сопряжено с более длительным восстановлением иммунной системы, однако, как уже было отмечено ранее, совместимость по HLA между донором и реципиентом, сама по себе, не влияет на реконституцию иммунной системы. Наиболее значимым фактором является режим профилактики острой РТПХ.

В нашем исследовании мы сравнили три режима иммуносупрессивной терапии (ИСТ) – это классический режим с использованием АТГ в сочетании с ингибиторами кальциневрина (CsA), микофенолатом мофетиллом (ММФ) и метотрексатом (МТХ), и альтернативные режимы – АТГ в сочетании с ПТ-ЦФ, CsA и ММФ (АТГ+ПТ-ЦФ), и TCR $\alpha\beta$ -деплегция.

Время приживления трансплантата практически не отличалось у пациентов после классической ИСТ и АТГ+ПТ-ЦФ (медиана 20,5 и 23 дня, соответственно). Помимо различной профилактики, которая потенциально может влиять на приживление, мы также проанализировали и влияние источника трансплантата. Так, у пациентов, которым проводили алло-ТГСК от частично совместимого или гаплоидентичного донора с альтернативной профилактикой АТГ+ПТ-ЦФ, чаще выбирали СКК в качестве источника ГСК, а при полностью совместимых алло-ТГСК и классической ИСТ – КМ. Известно, что использование КМ ассоциировано с более медленным приживлением трансплантата в сравнении с СКК [20, 23, 32]. Однако наши результаты показали, что выбор источника трансплантата не оказывал значимого влияния на восстановление общего числа лейкоцитов периферической крови (медиана +16 день – при использовании СКК, +22 день – при КМ) и скорость приживления трансплантата, а также существенно не влиял на восстановление Т-клеточного звена иммунной системы. Только на +30 день алло-ТГСК наблюдалось значимо меньшее количество CD8⁺ T_{nv}+s_{cm}, T_{cm}, T_{tm} периферической крови ($p = 0,005$, $p = 0,022$, $p = 0,019$, соответственно) и CD8⁺ T_{nv}+s_{cm}, T_{tm}, T_{te} костного мозга ($p = 0,044$, $p = 0,04$, $p = 0,016$, соответственно) у реципиентов КМ по сравнению с реципиентами СКК, что можно объяснить более гетерогенным клеточным составом самого трансплантата при использовании СКК [32]. Кроме того, в дальнейшем восстановление субпопуляций Т-клеток памяти не отличалось у реципиентов КМ и СКК.

В группе больных, у которых применяли АТГ+ПТ-ЦФ, у 3 использовали КМ в качестве источника трансплантата, и восстановление у этих пациентов происходило дольше, чем у больных, у которых использовали СКК (39 (24–41) дней и 23 (17–47) дней).

У пациентов после $\text{TCR}\alpha\beta$ -деплеции приживление трансплантата констатировалось раньше (медиана 13 дней) в сравнении с группой больных после АТГ-ПТ-ЦФ. В первую очередь, это связано с технической необходимостью заготовки лейкоконцентрата с исходно более высоким содержанием CD34^+ гемопоэтических клеток [15, 217]. Так, в нашем центре при проведении алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с $\text{TCR}\alpha\beta$ -деплецией клеточность трансплантата, как правило, превышает $5 \times 10^6/\text{кг}$ CD34^+ клеток, в то время как при трансплантации с классической ИСТ или с АТГ+ПТ-ЦФ клеточность составляет не более $4\text{--}5 \times 10^6/\text{кг}$ CD34^+ клеток. Кроме того, по всей видимости, сочетанное использование АТГ вместе с ПТ-ЦФ само по себе также удлиняет время приживления у этих пациентов.

Режимы иммуносупрессивной терапии с включением АТГ также ассоциировались с более высокой частотой несостоятельности трансплантата. Так, у пациентов после АТГ+ПТ-ЦФ частота гипофункций трансплантата и вторичной несостоятельности трансплантата составила 38,8% и 22,2%, соответственно, после классической ИСТ – 25% и 6,25%, соответственно. Наименьшее число этих осложнений наблюдалось в группе больных после $\text{TCR}\alpha\beta$ -деплеции (20% и 0%, соответственно). С одной стороны, проведение алло-ТГСК от частично совместимых и гаплоидентичных доноров увеличивает риски несостоятельности трансплантата. С другой стороны, использование АТГ, как показывают наши результаты, не только пролонгирует приживление, но и увеличивает риск гипофункции и отторжения, в особенности у пациентов с сочетанным использованием ПТ-ЦФ. Кроме этого, более чем в половине случаев несостоятельность трансплантата была связана с развитием вирусной инфекцией (CMV, HHV-6) – в 50% случаев при классической ИСТ, в 57,1% при АТГ+ПТ-ЦФ и в 100% случаев при $\text{TCR}\alpha\beta$ -деплеции, что ассоциировано с глубоким Т-клеточным иммунодефицитом в ранние сроки после алло-ТГСК.

Интересной оказалась частота развития острой РТПХ у пациентов после различных иммуносупрессивных режимов. Острая РТПХ развивалась практически в два раза чаще после «полностью совместимой» алло-ТГСК и классической профилактики РТПХ с использованием АТГ (40,6%) по сравнению с «несовместимыми» алло-ТГСК и альтернативной профилактикой (11,1% – при АТГ+ПТ-ЦФ и 20% – при $\text{TCR}\alpha\beta$ -деплеции). По всей видимости, проведение классической четырехкомпонентной иммуносупрессивной терапии (АТГ + ЦсА + ММФ + МТХ) при алло-ТГСК от полностью совместимого родственного или неродственного донора является не совсем оправданным, так как в 38,5% случаев, согласно нашим данным, это

приводит к смешанному химеризму, что требует в дальнейшем проведения трансфузий лимфоцитов донора. Это индуцирует развитие острой РТПХ II–IV степени, которая в 40% случаев является стероид-резистентной.

При использовании альтернативных режимов профилактики (TCR $\alpha\beta$ -деплеции и АТГ+ПТ-ЦФ) вероятность развития острой РТПХ достоверно не отличается ($p = 0,895$). Интересным является то, что, по сути, сама процедура TCR $\alpha\beta$ -деплеции практически полностью исключает возможность развития этого аллоиммунного осложнения, так как она основана на фактически механическом удалении $\alpha\beta$ -Т-клеток из трансплантата. Однако в 20% случаев, по нашим данным, после TCR $\alpha\beta$ -деплеции наблюдается развитие острой РТПХ. Стоит отметить, что во всех случаях не было зафиксировано тяжелых форм – III и IV степени, стероид-рефрактерной (у всех пациентов была диагностирована острая РТПХ II степени), в отличие от группы больных после АТГ+ПТ-ЦФ, где у всех пациентов наблюдалось развитие тяжелой РТПХ III степени и у 1 – стероид-рефрактерной формы, в то время как общая частота острой РТПХ составила 11,1%.

Фундаментальные исследования показали, что на +3 день после алло-ТГСК до 70–80% Т-лимфоцитов в селезенке, лимфатических узлах и пейеровых бляшках экспрессируют на своей поверхности активационный рецептор CD44, а к +6 дню их количество превышает 93%, что говорит о персистенции функционально активных Т-клеток в самые ранние сроки после алло-ТГСК. При дальнейшем исследовании оказалось, что через 12 часов после трансфузии аллогенных гемопоэтических клеток и до +3 дня большинство донорских Т-клеток экспрессируют хоуминг-рецепторы: CD4⁺ Т-клетки экспрессируют L-селектин (CD62L), CD8⁺ Т-клетки – CD62L и $\alpha 4\beta 7$ -интегрин. При этом было показано, что после +3 дня эти CD62L⁺ и $\alpha 4\beta 7$ ⁺ Т-клетки мигрируют в различные органы-мишени, вызывая их повреждение. Более того, было доказано, что помимо хоуминг-рецепторов, эти аллореактивные Т-клетки экспрессируют хемокиновый рецептор CCR-7, что и дает им возможность мигрировать в различные органы и ткани. При дальнейшем иммунофенотипировании была доказана принадлежность данной аллореактивной субпопуляции к наивным Т-клеткам (CD4⁺CD44⁻CD62L⁺CCR-7⁺), которые инфильтрировали ткани желудочно-кишечного тракта у мышей, у которых в дальнейшем развилась тяжелая острая РТПХ. Вместе с тем, авторам удалось доказать, что зрелые функционально активные Т-клетки (T_{em} – CD4⁺CD44⁺CD62L⁻CCR-7⁻) не являются аллореактивным клоном, так как не имеют CD62L и CCR-7, в результате чего, T_{em} не способны к пролиферации во вторичных лимфоидных органах и дальнейшей миграции в органы-мишени [255, 256]. Таким образом, было продемонстрировано, что аллореактивными Т-клетками являются наивные Т-лимфоциты, а не эффекторные Т-клетки.

Считается, что истинные клетки памяти (T_{scm}) являются той популяцией, которая способна обеспечить реконституцию Т-клеточного звена иммунной системы без рисков развития фатальной РТПХ. Это было показано в эксперименте на мышах, которым трансплантировали селектированные Т-клетки центральной памяти (T_{scm}) или селектированные T_{em}, после чего у этих мышей не развивалась РТПХ, в то время как при трансплантации наивных Т-клеток исследователи наблюдали 100% летальность в среднем на 56 день по причине развития фатальной острой РТПХ [257]. Наше исследование также подтверждает, что в основе иммунной толерантности лежит деплеция именно наивных Т-клеток (T_{nv}+scm), что протектирует развитие острой РТПХ. Было показано, что вероятность развития острой РТПХ после +30 дня была достоверно меньше у пациентов с меньшим количеством CD8⁺ T_{nv}+scm (< 1,31 кл/мкл) периферической крови на +30 день и составила 12,9% – против 46,2% (p = 0,008). Более низкое количество CD8⁺ и CD4⁺ T_{nv}+scm периферической крови на ранних сроках (на +30, +60, +90 день) после алло-ТГСК у пациентов после альтернативной профилактики острой РТПХ, в сравнении с классическим режимом ИСТ (p < 0,05), говорит о более мощном иммуноаблативном воздействии альтернативных режимов (АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеции), что является необходимым при выполнении алло-ТГСК от частично совместимых или гаплоидентичных доноров. Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу и экспериментальные данные о том, что в основе иммунной толерантности лежит деплеция именно пула наивных Т-клеток (T_{nv}+scm), что достигается при использовании иммунологически «более агрессивных» режимов профилактики (АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеция).

Восстановление Т-клеточного звена иммунной системы является возможным благодаря способности T_{scm} к пролиферации и генерации эффекторного пула (T_{em}, T_{te}) *in vivo*. Однако трансфузия только лишь эффекторных Т-клеток, даже в больших дозах, не обеспечивает иммунную реконституцию, в виду того что эти клетки не обладают пролиферативной способностью [258–260]. С другой стороны, методом проточной цитометрии и при анализе репертуара Т-клеточного рецептора на модели алло-ТГСК от гаплоидентичного донора было показано, что только лишь наивные (T_{nv}) и стволовые Т-клетки памяти (T_{scm}) могут обеспечить генерацию гетерогенного пула Т-клеток памяти, включая T_{scm} и эффекторный пул [261]. Как показала наша работа, несмотря на более массивную деплецию CD4⁺, CD8⁺ T_{nv}+scm при использовании альтернативных режимов иммуносупрессивной терапии, начиная с +6 месяцев восстановление T_{nv}+scm у этих пациентов не отличается от больных, которым проводили классическую ИСТ. Отсюда можно заключить, что использование АТГ+ПТ-ЦФ или TCRαβ-деплеции при алло-ТГСК от гаплоидентичного донора обеспечивает сравнимую

иммуноабляцию, что мы видим по частоте острой РТПХ в сравниваемых нами группах, сохраняя при этом возможность для последующей реконституции иммунной системы.

Феномен иммунологического истощения, который имеет место в норме у пожилых людей (старше 65 лет), как известно, ассоциирован с инволюцией тимуса, в результате чего иммунный ответ реализуется через более дифференцированные Т-клетки – клетки памяти (Т_{см}) и клетки-эффекторы (Т_{ем}, Т_{те}). Так называемый, иммунологический сдвиг с Т-клеток памяти на Т-эффекторы наблюдается при различных хронических инфекциях, таких как, например, ВИЧ-инфекция, а также при злокачественных опухолях. Постоянная антигенная стимуляция, которая имеет место при прогрессии опухолевого заболевания или в терминальной стадии ВИЧ-инфекции, в конце концов, приводит к истощению популяции Т-клеток памяти и, в первую очередь, Т_{см} [262–264]. Истощение пула Т_{см}, и преимущественно фракции цитотоксических CD8⁺ Т-клеток, наблюдается и у больных с рефрактерным течением или в рецидиве острого лейкоза [265]. В связи с этим считается, что именно в субпопуляции Т_{см} заложен главенствующий механизм противоопухолевого иммунитета. Эффективность, например, CAR–Т-клеточной терапии основана на длительной персистенции именно донорских Т_{см}, которые и реализуют противоопухолевый ответ [266]. Учитывая данные о роли Т_{см} в реализации противоопухолевого иммунитета, мы сравнили восстановление субпопуляций Т-клеток памяти в двух группах: у пациентов, у которых развился рецидив острого лейкоза после +30 дня алло-ТГСК, и больных в ремиссии основного заболевания после алло-ТГСК. По нашим данным, восстановление субпопуляций Т-клеток памяти в течение первых 6 месяцев после алло-ТГСК достоверно не отличалось в сравниваемых группах, что свидетельствует о том, что в первые полгода после алло-ТГСК реконституция Т-клеток памяти не оказывает значимого влияния на развитие рецидива острого лейкоза после алло-ТГСК. Однако при анализе динамики восстановления субпопуляций, в частности Т_{см}, было показано, что у пациентов, у которых использовали альтернативные режимы профилактики острой РТПХ количество Т_{см} в периферической крови на всех точках исследования (+30, +60, +90, +180 дни) не достигает референсных значений. Это, в свою очередь, иллюстрирует, что пациенты после альтернативных режимов профилактики острой РТПХ (АТГ+ПТ-ЦФ или после TCRαβ-деплеции) могут являться кандидатами на проведение им различной иммуноадаптивной терапии в раннем периоде после алло-ТГСК. Например, одним из вариантов такой терапии являются трансфузии донорских CD45RA⁻ Т-лимфоцитов памяти в течение первых 3-6 месяцев после алло-ТГСК [3, 13].

Не смотря на то, что реконституция субпопуляций Т-клеток памяти достоверно не отличалась в зависимости от развития рецидива заболевания, нужно отметить, что рецидивы

острого лейкоза после алло-ТГСК чаще наблюдались в группе пациентов после классической ИСТ (25%) по сравнению с пациентами после АТГ+ПТ-ЦФ (16,7%) и TCR $\alpha\beta$ -деплеции (20%). С другой стороны, значимо большее количество CD4⁺, CD8⁺ Tnv+scm в периферической крови у больных после классической ИСТ (основанной, в первую очередь, на использовании АТГ) на ранних сроках после алло-ТГСК (в течение первых 3 месяцев) в сравнении с пациентами после альтернативных режимов ($p < 0,05$) говорит о недостаточной лимфодеплеции в первом случае, которая затем приводит к смешанному кроветворению и, возможно, персистенции «уцелевших» опухолевых клеток, что в дальнейшем ведет к развитию рецидива заболевания.

Немаловажную роль в реализации противоопухолевого иммунного ответа играет его регуляция. Известно, что Т-клетки экспрессируют различные активирующие и/или ингибирующие рецепторы, взаимодействие с которыми приводит к реализации иммунного ответа или его ингибированию. Есть данные о том, что в патогенез острых лейкозов вовлечен механизм контрольных точек. Исследования показывают, что экспрессия негативных регуляторов иммунного ответа, в том числе и PD-1, на различных Т-клетках ассоциирована с рецидивами острых лейкозов [247–249, 267]. По нашим данным у пациентов после алло-ТГСК количество PD-1⁺ Т-клеток не может быть достоверным фактором, ассоциированным с развитием рецидива заболевания. Было показано, что у тех больных, у которых развился рецидив острого лейкоза после алло-ТГСК, доля PD-1⁺ Т-клеток эффекторного пула (T_{em}, T_{te}) в периферической крови на +30 день было значимо меньше по сравнению с пациентами в ремиссии заболевания после алло-ТГСК ($p < 0,05$).

Высокая экспрессия PD-1, а также других ингибиторных рецепторов на Т-клетках является характерной чертой, так называемых, Т-клеток с истощенным фенотипом. Данный феномен, как правило, наблюдается при хронической антигенной стимуляции, например, при гепатите С или ВИЧ-инфекции [268–270]. Экспрессия PD-1 является маркером Т-клеток с истощенным иммунофенотипом, что было доказано на мышинной модели хронических вирусных инфекций. При этом блокада сигнального пути PD-1/PD-L1 позволяет восстановить эффекторную функцию «истощенных» Т-клеток [270–272]. Схожий феномен мы наблюдаем у больных после алло-ТГСК, в особенности при трансплантации от гаплоидентичного донора. Так, у больных после TCR $\alpha\beta$ -деплеции количество CD4⁺ и CD8⁺ наивных Т-клеток и Т-клеток памяти (T_{cm}) с истощенным иммунофенотипом (экспрессирующих PD-1) более чем в 4 и 1,7 раз, соответственно, превышает количество таких же клеток после АТГ+ПТ-ЦФ или классической ИСТ на самых ранних этапах после алло-ТГСК (на +30 и +60 день). Полученные данные иллюстрируют, что восстановление Т-клеточного звена у больных после гапло-ТГСК в первые два месяца происходит за счет «истощенного» пула Т-клеток, что гипотетически может

увеличивать риски развития рецидива острого лейкоза у этих пациентов. С другой стороны известно, что в норме у взрослых общее количество PD-1⁺ Т-клеток составляет 60–70% от общего количества Т-клеток, что является одним из механизмов иммунологической толерантности [273]. У пациентов после алло-ТГСК, в особенности при алло-ТГСК от гаплоидентичного донора, доля «истощенных» Т-клеток может достигать 100% (на +30 день доля PD-1⁺ CD4⁺ T_{em} у больных после TCR $\alpha\beta$ -деплеции составила 100 % (37,50–100%), PD-1⁺ CD8⁺ T_{cm} – 89,29% (56,25%–100%)), что, в свою очередь, является необходимым механизмом, который протектирует развитие острой РТПХ. Это же доказывает и значимо меньший процент PD-1⁺ Т-клеток на +30 день у пациентов, у которых в дальнейшем развивается острая РТПХ. Возможно, в этой ситуации полученные результаты можно объяснить миграцией Т-клеток из периферической крови в органы-мишени, где непосредственно реализуется аллоиммунный ответ.

Характерной чертой адаптивного иммунного ответа является способность Т-клеток памяти к пролиферации в костном мозге и быстрой реализации эффекторной функции в ответ на повторное попадание антигена [274, 275]. Мы предположили, что у больных острыми лейкозами после алло-ТГСК реализация реакции «трансплантат против лейкоза» будет характеризоваться большим числом T_{cm} (преимущественно цитотоксических CD8⁺) в костном мозге. Однако было отмечено, что на всех сроках – на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК, в костном мозге преобладают Т-клетки эффекторного пула (T_{tm}, T_{em}, T_{te}), в то время как у здоровых людей костный мозг является довольно-таки гетерогенным, при этом около 50% приходится на наивные Т-клетки. Отсюда можно заключить, что на ранних сроках после алло-ТГСК (первые 6 месяцев) реконституция Т-клеточного звена иммунной системы происходит за счет более дифференцированных, функционально зрелых эффекторных Т-клеток донора вне зависимости от проводимой профилактики острой РТПХ. По всей видимости, наблюдаемый нами феномен отражает механизм гомеостатической пролиферации, который является ведущим механизмом реконституции Т-клеточного звена в первые месяцы после алло-ТГСК.

Таким образом, можно заключить, что реконституция Т-клеток памяти у пациентов в ранние сроки после алло-ТГСК происходит преимущественно за счет более дифференцированных и функционально более активных Т-клеток-эффекторов. Здесь нужно отметить, что действие альтернативных режимов ИСТ является более «агрессивным» по сравнению с классической ИСТ, о чем свидетельствует сниженное количество клеток эффекторного пула – T_{tm}, T_{em}, T_{te}, в периферической крови в течение первых 6 месяцев после алло-ТГСК после альтернативной ИСТ. При этом, если сравнить реконституцию Т-клеток

памяти у пациентов после альтернативных режимов – АТГ+ПТ-ЦФ и ТCRαβ-деплеции, то становится понятным, что действие первого является более «селектированным», так как ПТ-ЦФ в меньшей степени затрагивает CD8⁺ Т-эффекторный пул, что мы видим по снижению количеству CD8⁺ Т-клеток-эффекторов (T_{tm}, T_m, T_{te}) в периферической крови больных после ТCRαβ-деплеции в сравнении с пациентами после АТГ-ПТ+ЦФ. Эти данные подтверждает и исследование динамики восстановления субпопуляций, которое демонстрирует, что более «активное» восстановление после *ex vivo* ТCRαβ-деплеции (которое осуществляется за счет всех субпопуляций, включая T_{nv+scm} и T_{cm}, в то время как при *in vivo* Т-клеточной деплеции (АТГ+ПТ-ЦФ и классическая ИСТ) восстановление происходит за счет эффекторных Т-клеток) свидетельствует о более глубоком Т-клеточном иммунодефиците по сравнению с АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ, что потенциально может являться причиной более частых инфекционных осложнений и несостоятельности трансплантата [6, 217, 276, 277].

В заключение следует отметить, что на сегодняшний день не существует унифицированного режима профилактики острой РТПХ. Проведенное исследование показало преимущества использования ПТ-ЦФ в качестве профилактики острой РТПХ. Во-первых, его применение обеспечивает необходимую иммуноабляцию, что не увеличивает риски развития острой РТПХ. Во-вторых, ПТ-ЦФ обеспечивает необходимую лимфодеплецию, что обеспечивает 100% приживление трансплантата. В-третьих, действие ПТ-ЦФ заключается в деплеции непосредственно аллореактивных Т-клеток без значимого воздействия на пул T_{cm} и эффекторный пул (реконституция этих субпопуляций не отличается от реконституции при использовании классической ИСТ), что в результате сохраняет возможность для адекватной и полноценной реконституции всего Т-клеточного звена иммунной системы и реализации противоопухолевого иммунного ответа.

Применение же ТCRαβ-деплеции как метода профилактики острой РТПХ у взрослых больных является возможным, так как 1) этот подход обладает сопоставимым с режимом, включающим ПТ-ЦФ, достаточным иммуноаблативным воздействием; 2) не пролонгирует реконституцию Т-клеточного звена иммунной системы (на +180 день восстановление субпопуляций и, в первую очередь, T_{nv+scm} не отличается от пациентов после АТГ+ПТ-ЦФ и классической ИСТ). Однако здесь нужно отметить, что реконституция Т-клеток памяти у пациентов после ТCRαβ-деплеции на ранних сроках происходит за счет преимущественно механизма гомеостатической пролиферации (как и после других режимов профилактики) и «истощенных» Т-клеток, что, впоследствии не сможет обеспечить полноценную реконституцию Т-клеточного звена иммунной системы. Тимус-зависимый путь восстановления, т.е. образование *de novo* Т-лимфоцитов, у взрослых больных после ТCRαβ-деплеции по сути не

может быть полноценным, в виду физиологических особенностей взрослых больных (инволюции тимуса), предшествующего химиотерапевтического лечения, а также практически полного удаления Tnv+scm из трансплантата.

Что касается применения АТГ в режимах профилактики острой РТПХ, то с иммунологической точки зрения, как показывает наша работа, это не совсем оправдано, так как АТГ не обеспечивает необходимую лимфоделяцию, что часто приводит к смешенному химеризму, рецидивам после алло-ТГСК, необходимости проведения иммуноадаптивной терапии с включением трансфузий лимфоцитов донора, что индуцирует развитие тяжелой острой РТПХ, включая стероид-резистентные формы. Наша работа продемонстрировала, что иммунологически более целесообразным является использование ПТ-ЦФ без сочетанного применения АТГ в качестве профилактики РТПХ. Основываясь на полученных нами данных, в нашем центре было инициировано рандомизированное открытое одноцентровое исследование по сравнению двух иммуносупрессивных режимов – ПТ-ЦФ и АТГ+ПТ-ЦФ с циклоспорином А и микофенолатом мофетилом, у пациентов, которым выполняется алло-ТГСК от полностью совместимого неродственного донора в режиме пониженной интенсивности.

Заключение

Острая РТПХ по-прежнему остается ведущей причиной инвалидизации и смерти пациентов после алло-ТГСК. Учитывая все большее распространение алло-ТГСК от частично совместимых, в том числе гаплоидентичных, доноров, актуальным является дальнейшее совершенствование и поиск новых режимов профилактики этого осложнения. Наряду с этим, другой нерешенной проблемой алло-ТГСК остаются рецидивы заболевания. Крайне важным, на наш взгляд, является понимание механизмов, которые лежат в основе двух главных иммунологических реакций – реакции «трансплантат против опухоли» и реакции «трансплантат против хозяина», которые реализуются с участием различных субпопуляций Т-клеток памяти.

Наша работа была посвящена изучению реконституции адаптивного звена иммунного ответа у пациентов в раннем периоде после алло-ТГСК. В ходе работы было показано, что восстановление Т-клеток у пациентов в течение первых 6 месяцев происходит за счет пролиферации донорских зрелых Т-клеток эффекторного пула. Интересным является то, что в условиях нормального функционирования иммунной системы (показано на примере здоровых доноров) в костном мозге наблюдается обратный феномен, а именно преобладание наивных и истинных клеток памяти (Т-стволовые клетки памяти и Т-клетки центральной памяти). В условиях практически «полного отсутствия» иммунной системы – у больных после алло-ТГСК, реализация иммунного ответа осуществляется зрелыми Т-клетками, что характеризует феномен гомеостатической пролиферации. Таким образом, можно заключить, что даже через 6 месяцев после алло-ТГСК говорить об истинной реконституции Т-клеточного звена иммунной системы не совсем корректно. Более того, использование альтернативных режимов профилактики острой РТПХ (АТГ+ПТ-ЦФ или $TCR\alpha\beta$ -деплеция) приводит к глубокой деплеции пула наивных Т-клеток ($T_{nv}+scm$) и Т-клеток центральной памяти (T_{cm}), что сопровождается глубоким Т-клеточным иммунодефицитом. Так, было показано, что на +30, +60, +90 дни абсолютное количество $T_{nv}+scm$ и T_{cm} периферической крови значительно меньше после альтернативных режимов профилактики острой РТПХ – АТГ+ПТ-ЦФ и $TCR\alpha\beta$ -деплеции, в сравнении с классическим режимом, основанном на применении АТГ ($p < 0,05$). Однако, не смотря на более массивную деплецию пула $T_{nv}+scm$ при использовании альтернативных режимов иммуносупрессивной терапии, на +180 день количество $T_{nv}+scm$ у этих пациентов достоверно не отличается от больных, которым проводили классическую ИСТ ($p = 0,06$ и $p = 0,273$ для популяции $CD4^+$ и $CD8^+$, соответственно), что, с одной стороны, говорит о сравнимом иммуноаблативном воздействии самих альтернативных режимов (АТГ+ПТ-ЦФ и $TCR\alpha\beta$ -

деплеции), что мы видим по частоте острой РТПХ в сравниваемых нами группах, а с другой – свидетельствует о том, что иммунологически более «агрессивное» воздействие альтернативных режимов на ранних сроках (+30, +60, +90 дни) в дальнейшем не пролонгирует восстановление Т-клеточного звена иммунной системы (на +180 день реконституция субпопуляций Tcm и эффекторного пула – Ttm, Tem, Tte, также достоверно не отличается после классической ИСТ и альтернативных режимов).

Роль субпопуляции Tnv+scm в развитии острой РТПХ доказывается и тем, что у тех пациентов, у которых развивалась острая РТПХ после +30 дня, количество клеток Tnv+scm было значимо больше в сравнении с больными без острой РТПХ ($p = 0,008$). Таким образом, определение количества Tnv+scm в периферической крови на +30 день может быть полезным в плане оценки рисков развития острой РТПХ, что дает возможность для необходимой ранней (еще до дебюта острой РТПХ) модификации проводимой иммуносупрессивной терапии у каждого пациента. По нашим данным, если абсолютное количество $CD8^+$ Tnv+scm в периферической крови на +30 день меньше 1,31 кл/мкл, то вероятность острой РТПХ составляет 12,9% – против 46,2% ($p = 0,008$).

Реализация РТПО в ранние сроки после алло-ТГСК, когда еще не произошло полного восстановления противоопухолевого иммунного ответа, по всей видимости, осуществляется за счет донорских более дифференцированных Т-клеток. Учитывая тот факт, что истинные клетки памяти, прежде всего популяция Tcm, играют ключевую роль в осуществлении противоопухолевого контроля, мы проанализировали восстановление Tcm и других субпопуляций (Tnv+scm, Ttm, Tem, Tte) у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК в зависимости от развития рецидива заболевания. На всех исследуемых сроках (+30, +60, +90, +180 дни) реконституция субпопуляций Tnv+scm, Tcm, Ttm, Tem, Tte периферической крови и костного мозга достоверно не отличалась у тех пациентов, у которых развился рецидив острого лейкоза после алло-ТГСК, от тех, у кого сохранялась ремиссия заболевания. Таким образом, было показано, что реконституция Т-клеток отдельных субпопуляций клеток памяти на ранних сроках (до +6 месяцев включительно) достоверно не влияют на развитие рецидива острого лейкоза после алло-ТГСК.

Реконституция иммунной системы включает в себя не только количественное восстановление иммунокомпетентных клеток до соответствующей физиологической нормы, но и подразумевает нормальную регуляцию иммунного ответа. Одним из механизмов этой регуляции, который вовлечен и в противоопухолевый контроль, является механизм ингибиторных контрольных точек (англ. «*check-point inhibitors*»). Учитывая литературные данные о роли PD-1 в прогрессии опухолевого заболевания, мы проанализировали развитие

рецидива в зависимости от доли PD-1⁺ Т-клеток у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК. Было показано, что у тех больных, у которых развился рецидив после +30 дня алло-ТГСК, доля PD-1⁺ Т-клеток эффекторного пула (T_{em}, T_{te}) в периферической крови на +30 день была значимо меньше по сравнению с пациентами, у которых сохранялась ремиссия заболевания ($p = 0,043$ и $p = 0,008$, соответственно). Однако нужно учитывать, что регуляция иммунного ответа у пациентов после алло-ТГСК на ранних сроках (в первые 6 месяцев) осуществляется в условиях «искусственного» его подавления, то есть за счет длительного воздействия различной, как правило, многокомпонентной ИСТ, что само по себе потенциально может влиять на регуляцию Т-клеток *in vivo*. В связи с этим, рассматривать PD-1⁺ субпопуляцию Т-клеток с точки зрения ее вовлечения непосредственно в противоопухолевый контроль на ранних сроках после алло-ТГСК представляется затруднительным.

Известно, что PD-1-ассоциированный механизм является необходимым и для формирования иммунологической толерантности. То же наблюдается и у пациентов после алло-ТГСК, особенно при трансплантации от гаплоидентичного донора. Показано, что у пациентов после гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ -деплецией доля PD-1⁺ Т-клеток субпопуляций T_{nv}+s_{cm}, T_{cm}, а также клеток эффекторного пула (T_{em}, T_{te}) на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК была значимо больше в сравнении с пациентами после алло-ТГСК с классической профилактики РТПХ или режимом АТГ+ПТ-ЦФ ($p < 0,05$). В совокупности с этим, значимо меньший процент PD-1⁺ CD4⁺ T_{nv}+s_{cm} и PD-1⁺ CD4⁺ T_{cm} в периферической крови пациентов на +30 день, у которых в дальнейшем развивалась острая РТПХ, в сравнении с пациентами без острой РТПХ ($p = 0,045$ и $p = 0,034$, соответственно), свидетельствует о вовлечении PD-1-ассоциированного механизма в формирование иммунологической толерантности у пациентов в ранние сроки после алло-ТГСК.

В целом, проведенное исследование показало, что реконституция гетерогенной популяции Т-клеток памяти, как основной популяции иммунокомпетентных клеток адаптивного звена Т-клеточного иммунитета, на ранних сроках после алло-ТГСК является «иммунологическим базисом», от которого зависит развитие последующих событий. Различное воздействие используемых режимов иммуносупрессивной терапии, а также понимание роли отдельных субпопуляций дает возможности для патогенетически обоснованного выбора эффективной профилактики РТПХ и дальнейшей своевременной модификации иммуносупрессивной терапии, а также проведения обоснованной превентивной терапии, включая современные клеточные технологии.

Выводы

1. У пациентов с острыми лейкозами в ранние сроки после алло-ТГСК (первые полгода) реконституция Т-клеточного звена иммунной системы осуществляется преимущественно за счет более дифференцированных Т-клеток эффекторного пула (T_{tm}, T_{em}, T_{te}) костного мозга, в то время как количество наивных и Т-стволовых клеток памяти (T_{nv+scm}) и Т-клеток центральной памяти (T_{cm}) остается редуцированным.

2. Различные режимы профилактики острой РТПХ по-разному воздействуют на Т-клеточное звено иммунной системы в ранние сроки (+30, +60, +90 дни) после алло-ТГСК. Значимо меньшее количество T_{nv+scm}, T_{cm} периферической крови на ранних сроках после алло-ТГСК при использовании альтернативных режимов профилактики острой РТПХ – АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеции (p < 0,05), свидетельствует об их более «агрессивном воздействии» на Т-клеточное звено иммунной системы по сравнению с классической ИСТ. Значимо меньшее количество T_{nv+scm}, T_{cm} периферической крови на ранних сроках, а также значимо меньшее количество Т-клеток эффекторного пула (T_{tm}, T_{em}, T_{te}) периферической крови на +180 день алло-ТГСК у пациентов после TCRαβ-деплеции (p < 0,05) свидетельствует о более «агрессивном воздействии» TCRαβ-деплеции по сравнению с АТГ+ПТ-ЦФ.

3. Реконституция различных субпопуляций Т-клеток памяти в течение первых 6 месяцев после алло-ТГСК достоверно не влияет на развитие рецидива острого лейкоза.

4. Вероятность развития острой РТПХ после +30 дня значимо меньше у пациентов с меньшим количеством CD8⁺ T_{nv+scm} (< 1,31 кл/мкл) периферической крови на +30 день и составляет 12,9% (p = 0,08). Показано, что «удаление» пула T_{nv+scm} на +30 день может являться одним из ведущих механизмов профилактики острой РТПХ, что наиболее эффективно происходит при использовании альтернативных режимов – АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеции.

5. Значимо большее количество CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток субпопуляций T_{nv+scm}, T_{cm}, а также клеток эффекторного пула (T_{tm}, T_{em}), экспрессирующих негативный регулятор иммунного ответа – PD-1, на +30, +60, +90, +180 дни после алло-ТГСК у пациентов после TCRαβ-деплеции в сравнении с классической ИСТ и АТГ+ПТ-ЦФ (p < 0,05) может свидетельствовать о потенциальном механизме, который препятствует развитию острой РТПХ при алло-ТГСК от гаплоидентичного донора.

6. Показано, что у тех пациентов, у которых развивалась острая РТПХ после +30 дня, количество PD-1⁺ CD4⁺ T_{nv+scm} (p = 0,045) и PD-1⁺ CD4⁺ T_{cm} (p = 0,034) периферической крови на +30 день было значимо меньшее по сравнению с больными без острой РТПХ. На +30 день количество PD-1⁺ CD8⁺ T_{tm} (p = 0,043) и PD-1⁺ CD8⁺ T_{te} (p = 0,008) периферической

крови было значимо меньше у пациентов, у которых в дальнейшем развился рецидив острого лейкоза, по сравнению с больными в ремиссии. Таким образом, большее количество PD-1⁺ Т-клеток у пациентов с острыми лейкозами в ранние сроки после алло-ТГСК является необходимым механизмом, препятствующим развитию острой РТПХ, и не может рассматриваться как достоверный фактор развития рецидива заболевания.

Практические рекомендации

1. Режим профилактики острой РТПХ, основанный на использовании посттрансплантационного циклофосфамида, является эффективным и может рассматриваться как универсальный при проведении любой алло-ТГСК у взрослых больных острыми лейкозами

2. Все пациенты после алло-ТГСК с использованием альтернативных режимов профилактики острой РТПХ (с включением посттрансплантационного циклофосфамида, с *ex vivo* TCR $\alpha\beta$ -деплецией) должны рассматриваться как кандидаты на проведение иммунноадаптивной терапии (трансфузии CD3⁺ лимфоцитов донора, трансфузии CD45RA⁻ лимфоцитов донора, трансфузия других селективированных фракций лимфоцитов донора) на ранних сроках после алло-ТГСК (первые 6 месяцев)

3. Количественная оценка CD8⁺ Tnv+scm в периферической крови пациентов на +30 день алло-ТГСК может рассматриваться как дополнительный метод исследования с целью оценки рисков развития острой РТПХ. Если количество CD8⁺ Tnv+scm превышает 1,31 кл/мкл, то целесообразным является рассмотрение вопроса о ранней модификации проводимой иммуносупрессивной терапии, в том числе, ее эскалации.

Список сокращений

АГ - антиген

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

АПК – антиген-презентирующие клетки

АТ - антитело

АТГ – антитимоцитарный глобулин

БРВ – безрецидивная выживаемость

ВОБ – вено-окклюзионная болезнь

ВИЧ – вирус иммунодефицита

Гапло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичного донора

Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИКТ - иммунологические контрольные точки

ИЛ- - интерлейкин

ИСТ – иммуносупрессивная терапия

КМ – костный мозг

МДС – миелодиспластический синдром

ММФ – микофенолата мофетил

МРБ – минимальная резидуальная болезнь

МТХ – метотрексат

ОВ – общая выживаемость

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелобластный лейкоз

ПККА – парциальная красноклеточная аплазия

ПТ-ЦФ – посттрансплантационный циклофосфамид

РТПО – реакция «трансплантат против опухоли»

РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»

СКК – стволовые кроветворные клетки

ТОТ – тотальное облучение тела

ТКР – Т-клеточный рецептор

ТЛД – трансфузия лимфоцитов донора

ХЛЛ – хронический лимфолейкоз

ХММЛ – хронический миеломоноцитарный лейкоз

ЭКФ – экстракорпоральный фотоферез

CMV – цитомегаловирусная инфекция

CD – кластер дифференцировки

CsA, ЦсА – циклоспорин А

CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4) – антиген цитотоксических Т-лимфоцитов

ЕВМТ – Европейская организация по трансплантации костного мозга и стволовых клеток

EBV – Эпштейна-Барр вирусная инфекция

FDA (Food and Drug Administration) - «Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов» в США

HHV-6 – герпес 6-го типа

HLA – человеческие лейкоцитарные антигены

IgM - иммуноглобулин класса М

IgG – иммуноглобулин класса G

INF γ – интерферон гамма

LAG-3 (Lymphocyte Activation Gene-3) – ген активации лимфоцитов

MAC – миелоаблативное кондиционирование

MHC – главный комплекс гистосовместимости

NK – натуральные киллеры

PB – периферическая кровь

PD-1 (Programmed Death-1) – белок запрограммированной клеточной гибели

RIC – режим пониженной интенсивности

T_{cm} – Т-клетки центральной памяти

T_{em} – Т-клетки эффекторной памяти

TIM-3 (T cell Immunoglobulin and Mucin protein-3) – Т-клеточный иммуноглобулин и муциновый домен 3

T_{nv} – Т-наивные клетки

TNC – общее количество ядродержащих клеток

TNF – фактор некроза опухоли

T_{nv}+s_{cm} – Т-наивные и стволовые клетки памяти

TREC, RTE – Т-клетки – недавние эмигранты из тимуса

Treg – Т-регуляторные клетки

T_{rm} – Т-клетки резидуальной памяти

T_{s_{cm}} – Т-стволовые клетки памяти

T_{tm} – T-клетки транзитной памяти

T_{te} – T-терминальные эффекторы

Список литературы

1. Сидорова А.А. Факторы риска отторжения и неприживления трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у больных острыми лейкозами / Сидорова А.А., Дроков М.Ю., Кузьмина Л.А., Королева О.М., Михальцова Е.Д., Васильева В.А., Попова Н.Н., Усикова Е.В., Конова З.В., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т. 63. – №. S1. – С. 176.
2. Бондаренко С.Н. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при остром миелобластном лейкозе в первой ремиссии / Бондаренко С.Н., Семенова Е.В., Вавилов В.Н., Станчева Н.В., Морозова Е.В., Алянский А.Л., Бабенко Е.В., Осипова Н.Э., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В. // Терапевтический архив. – 2013. – Т. 85. – № 7. – С. 18–25.
3. Масчан М.А. Деплеция альфа/бета-Т-лимфоцитов – надежная платформа для развития трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичных доноров / Масчан М.А. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – Т. 2. – №. 3. – С. 34-38.
4. Давыдова Ю.О. Влияние экстракорпорального фотофереза на основные субпопуляции лимфоцитов крови у пациентов с хронической реакцией трансплантат против хозяина / Давыдова Ю.О., Васильева В.А., Капранов Н.М., Михальцова Е.Д., Гальцева И. В., Гапонова Т.В., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. // Клеточная терапия и трансплантация. – 2017. – Т. 6. – №. 3. – С. 28-30.
5. Боголюбова А.В. Иммуноterapia опухолей, основанная на блокировке иммунологических контрольных «точек» («чекпойнтов») / Боголюбова А.В., Ефимов Г.А., Друцкая М.С., Недоспасов С.А. // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – №. 5. – С. 395–406.
6. Богоявленская А.А. Герпес-вирусные инфекции у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с ТCR $\alpha\beta$ и CD19 деплецией: факторы риска и прогноз / Богоявленская А.А., Лаберко А.Л., Шелихова Л.Н., Шеховцова Ж.Б., Балашов Д.Н., Воронин К.А., Курникова Е.Е., Боякова Е.В., Райкина Е.В., Бриллиантова В.В., Пирумова Р.П., Масчан М.А. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии № 1. – 2017. – Т. 16. – С. 10–21.
7. Li M. Age related human T cell subset evolution and senescence / Li M., Yao D., Zeng X., Kasakovski D., Zhang Y., Chen S., Zha X., Li Y., Xu L. // Immunity & Ageing. – 2019. – Т. 16. – №. 1. – С. 24.

8. Anasetti C. Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma / Anasetti C., Beatty P.G., Storb R., Martin P.J., Mori M., Sanders J.E., Thomas E.D., Hansen J.A. // *Human Immunology*. – 1990. – T. 29. – №. 2. – C. 79–91.
9. Luznik L. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide / Luznik L., O'Donnell P.V., Symons H.J., Chen A.R., Leffell M.S., Zahurak M., Gooley T.A., Piantadosi S., Kaup M., Ambinder R.F., Huff C.A., Matsui W., Bolaños-Meade J., Borrello I., Powell J.D., Harrington E., Warnock S., Flowers M., Brodsky R.A., Sandmaier B.M., Storb R.F., Jones R.J., Fuchs E.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2008. – T. 14. – №. 6. – C. 641–650.
10. Luznik L. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide / Luznik L., Jalla S., Engstrom L.W., Iannone R., Fuchs E.J. // *Blood*. – 2001. – T. 98. – №. 12. – C. 3456–3464.
11. Mayumi H. Cyclophosphamide-Induced Immunological Tolerance: an Overview / Mayumi H., Umesue M., Nomoto K. *Immunobiology*. – 1996. – №. 195. – C. 129-139.
12. Dutt S. Naive and memory T cells induce different types of graft-versus-host disease / Dutt S., Tseng D., Ermann J., George T.I., Liu Y.P., Davis C.R., Fathman C.G., Strober S. // *Journal of Immunology*. – 2007. – T. 179 – №. 10. – C. 6547–6554.
13. Maschan M. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia / Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., Persiantseva M., Skvortsova Y., Laberko A., Muzalevskii Y., Kazachenok A., Glushkova S., Bobrynina V., Kalinina V., Olshanskaya Y., Baidildina D., Novichkova G., Maschan A. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 51. – №. 5. – C. 668–674.
14. Lamb L.S. Jr. Increased frequency of TCR gamma delta + T cells in disease-free survivors following T cell-depleted, partially mismatched, related donor bone marrow transplantation for leukemia / Lamb L.S. Jr., Henslee-Downey P.J., Parrish R.S., Godder K., Thompson J., Lee C., Gee A.P. // *Journal of Hematotherapy*. – 1996. – T. 5. – №. 5. – C. 503–509.
15. Saad A. Ex vivo T-cell depletion in allogeneic hematopoietic stem cell transplant: past, present and future / Saad A., Lamb L. // *Bone marrow transplantation*. – 2017. – T. 52. – №. 9. – C. 1241–1248.

16. Federmann B. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: a phase II study / Federmann B., Bornhauser M., Meisner C., Kordelas L., Beelen D.W., Stuhler G., Stelljes M., Schwerdtfeger R., Christopeit M., Behre G., Faul C., Vogel W., Schumm M., Handgretinger R., Kanz L., Bethge W.A. // *Haematologica*. – 2012. – T. 97. – №. 10. – C. 1523–1531.
17. Bacigalupo A. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO) / Bacigalupo A., Lamparelli T., Bruzzi P., Guidi S., Alessandrino P.E., di Bartolomeo P., Oneto R., Bruno B., Barbanti M., Sacchi N., Van Lint M.T., Bosi A. // *Blood*. – 2001. – T. 98. – №. 10. – C. 2942–2947.
18. Binkert L. Lower dose anti-thymocyte globulin for GvHD prophylaxis results in improved survival after allogeneic stem cell transplantation / Binkert L., Medinger M., Halter J.P., Heim D., Gerull S., Holbro A., Lengerke C., Weisser M., Passweg J.R. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 50. – №. 10. – C. 1331–1336.
19. Mehta R.S. Immune reconstitution post allogeneic transplant and the impact of immune recovery on the risk of infection / Mehta R.S., Rezvani K. // *Virulence*. – 2016. – T. 7. – №. 8. – C. 901–916.
20. Bae K.W. Factors influencing lymphocyte reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children / Bae K.W., Kim B.E., Koh K.N., Im H.J., Seo J.J. // *The Korean Journal of Hematology*. – 2012. – T. 47. – №. 1. – C. 44–52.
21. De Koning C. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Children / De Koning C., Plantinga M., Besseling P., Boelens J.J., Nierkens S. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 22. – №. 2. – C. 195–206.
22. Williams K.M. Immune reconstitution and implications for immunotherapy following haematopoietic stem cell transplantation / Williams K.M., Gress R.E. // *Best practice & research. Clinical haematology*. – 2008. – T. 21. – №. 3. – C. 579–596.
23. Ogonek J. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Ogonek J., Kralj Juric M., Ghimire S., Varanasi P. R., Holler E., Greinix H., Weissinger E. // *Frontiers in Immunology*. – 2016. – №. 7. – C. 507.
24. Pical-Izard C. Reconstitution of natural killer cells in HLA-matched HSCT after reduced-intensity conditioning: impact on clinical outcome / Pical-Izard C., Crocchiolo R., Granjeaud S., Kochbati E., Just-Landi S., Chabannon C., Frassati C., Picard C., Blaise D., Olive D., Fauriat C. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 21. – №. 3. – C. 429–439.

25. Fry T.J. Immune reconstitution following hematopoietic progenitor cell transplantation: challenges for the future / Fry T.J., Mackall C.L. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2005. – T. 35. – №. 1. – C. 53–57.
26. Huttunen P. Impact of very early CD4(+) /CD8(+) T cell counts on the occurrence of acute graft-versus-host disease and NK cell counts on outcome after pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Huttunen P., Taskinen M., Siitonen S., Saarinen-Pihkala U.M. // *Pediatric Blood & Cancer*. – 2015. – T. 62. – №. 3. – C. 522-528.
27. Edinger M. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation / Edinger M., Hoffmann P., Ermann J., Drago K., Fathman C.G., Strober S., Negrin R.S. // *Nature Medicine*. – 2003. – T. 9. – №. 9. – C.1144–1150.
28. Marie-Cardine A. Transitional B cells in humans: characterization and insight from B lymphocyte reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation / Marie-Cardine A., Divay F., Dutot I., Green A., Perdrix A., Boyer O., Contentin N., Tilly H., Tron F., Vannier J.P., Jacquot S. // *Clinical Immunology*. – 2008. – T. 127. – №. 1. – C. 14–25.
29. Buhlmann L. Lymphocyte subset recovery and outcome after T-cell replete allogeneic hematopoietic SCT / Buhlmann L., Buser A.S., Cantoni N., Gerull S., Tichelli A., Gratwohl A., Stern M. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2011. – T. 46. – №. 10. – C. 1357–1362.
30. Kalwak K. Immune reconstitution after haematopoietic cell transplantation in children: immunophenotype analysis with regard to factors affecting the speed of recovery / Kalwak K., Gorczyńska E., Toporski J., Turkiewicz D., Słociak M., Ussowicz M., Latos-Grazyńska E., Król M., Bogusławska-Jaworska J., Chybicka A. // *British Journal of Haematology*. – 2002. – T. 118. – №. 1. – C. 74–89.
31. Kalwak K. Higher CD34(+) and CD3(+) cell doses in the graft promote long-term survival, and have no impact on the incidence of severe acute graft-versus-host disease after in vivo T cell-depleted unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in children / Kalwak K., Porwolik J., Mielcarek M., Gorczynska E., Owoc-Lempach J., Ussowicz M., Dyla A., Musial J., Pazdzior D., Turkiewicz D., Chybicka A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2010. – T. 16. – №. 10. – C. 1388-1401.
32. Ottinger H.D. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow / Ottinger H.D., Beelen D.W., Scheulen B., Schaefer U.W., Grosse-Wilde H. // *Blood*. – 1996. – T. 88. – №. 7. – C. 2775–2779.
33. Pulsipher M.A. Donor, recipient, and transplant characteristics as risk factors after unrelated donor PBSC transplantation: beneficial effects of higher CD34+ cell dose / Pulsipher M.A.,

- Chitphakdithai P., Logan B.R., Leitman S.F., Anderlini P., Klein J.P., Horowitz M.M., Miller J.P., King R.J., Confer D.L. // *Blood*. – 2009. – T. 114. – №. 13. – C. 2606-2616.
34. Törlén J. Low CD34 dose is associated with poor survival after reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome / Törlén J., Ringdén O., Le Rademacher J., Batiwalla M., Chen J., Erkers T., Ho V., Kebriaei P., Keever-Taylor C., Kindwall-Keller T., Lazarus H.M., Laughlin M.J., Lill M., O'Brien T., Perales M.A., Rocha V., Savani B.N., Sz wajcer D., Valcarcel D., Eapen M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2014. – T. 20. – №. 9. – C. 1418–1425.
35. Remberger M. Effect of Total Nucleated and CD34(+) Cell Dose on Outcome after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Remberger M., Törlén J., Ringdén O., Engström M., Watz E., Uhlin M., Mattsson J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 21. – №. 5. – C. 889–893.
36. Anderlini P. Peripheral blood stem cell donation: an analysis from the International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) and European Group for Blood and Marrow Transplant (EBMT) databases / Anderlini P., Rizzo J.D., Nugent M.L., Schmitz N., Champlin R.E., Horowitz M.M. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2001. – T. 27. – №. 7. – C. 689–692.
37. Woodard P. Etiology and outcome of graft failure in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients / Woodard P., Tong X., Richardson S., Srivastava D.K., Horwitz E.M., Benaim E., Geiger T., Hale G., Leung W., Turner V., Yusuf U., Cunningham J., Handgretinger R. // *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. – 2003. – T. 25. – №. 12. – C. 955–959.
38. Fuji S. Peripheral blood as a preferable source of stem cells for salvage transplantation in patients with graft failure after cord blood transplantation: a retrospective analysis of the registry data of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation / Fuji S., Nakamura F., Hatanaka K., Taniguchi S., Sato M., Mori S., Sakamaki H., Yabe H., Miyamoto T., Kanamori H., Ueda Y., Kawa K., Kato K., Suzuki R., Atsuta Y., Tamaki T., Kanda Y. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2012. – T. 18. – №. 9. – C. 1407– 1414.
39. Eapen M. Higher mortality after allogeneic peripheral-blood transplantation compared with bone marrow in children and adolescents: the Histocompatibility and Alternate Stem Cell Source Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry / Eapen M., Horowitz M.M., Klein J.P., Champlin R.E., Loberiza F.R. Jr., Ringdén O., Wagner J.E. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2004. – T. 22. – №. 24. – C. 4872–4880.
40. Levine J.E. Cytokine-mobilized allogeneic peripheral blood stem cell transplants in children result in rapid engraftment and a high incidence of chronic GVHD / Levine J.E., Wiley J.,

- Kletzel M., Yanik G., Hutchinson R.J., Koehler M., Neudorf S. // Bone Marrow Transplantation. – 2000. – T. 25. – №. 1. – C. 13–18.
41. Snowden J.A. Allogeneic PBPC transplantation: an effect on incidence and distribution of chronic graft-versus-host disease without long-term survival benefit? / Snowden J.A., Nivison-Smith I., Atkinson K., Fay K., Concannon A., Dodds A., Milliken S., Biggs J. // Bone Marrow Transplantation. – 2000. – T. 25. – №. 1. – C. 119–120.
42. Benito A.I. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) from HLA-identical sibling donors in children with hematological diseases: a single center pilot study / Benito A.I., Gonzalez-Vicent M., Garcia F., Balas A., Quintero V., Madero L., Vicario J.L., Diaz M.A. // Bone Marrow Transplantation. – 2001. – T. 28. – №. 6. – C. 537–543.
43. Ruggeri A. Bone marrow versus mobilized peripheral blood stem cells in haploidentical transplants using posttransplantation cyclophosphamide / Ruggeri A., Labopin M., Bacigalupo A., Gülbas Z., Koc Y., Blaise D., Bruno B., Irrera G., Tischer J., Diez-Martin J.L., Castagna L., Ciceri F., Mohty M., Nagler A. // Cancer. – 2018. – T. 124. – №. 7. – C. 1428–1437.
44. Weisdorf D. Which donor or graft source should you choose for the strongest GVL? Is there really any difference / Weisdorf D. // Best practice & research. Clinical haematology. – 2013. – T. 26. – №. 3. – C. 293–296.
45. Fleischhauer K. Prevention of relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation by donor and cell source selection / Fleischhauer K., Hsu K.C., Shaw B.E. // Bone Marrow Transplantation. – 2018. – T. 53. – №. 12. – C. 1498–1507.
46. Ballen K.K. Is there a best graft source of transplantation in acute myeloid leukemia? / Ballen K.K. // Best practice & research. Clinical haematology. – 2015. – T. 28. – №. 2–3. – C. 147–154.
47. Silvestri G. Memories of Jean Dausset. A pioneering scientist in medical ethics / Silvestri G. // Blood Transfusion. – 2010. – T. 8. – №. 2. – C. 130–131.
48. Iannone R. Tissue typing for hematopoietic cell transplantation: newer techniques and newer antigens for which cross-matching is helpful / Iannone R., Davies S.M. // Pediatric Transplantation. – 2005. – T. 9. – №. 7. – C. 76–80.
49. Trivedi V.B. Human leukocyte antigen and its role in transplantation biology / Trivedi V.B., Dave A.P., Dave J.M., Patel B.C. // Transplantation Proceedings. – 2007. – T. 39. – №. 3. – C. 688–693.
50. Gatti R.A. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency / Gatti R.A., Meuwissen H.J., Allen H.D., Hong R., Good R.A. // Lancet. – 1968. – №. 2. – C. 1366–1369.

51. Thomas E.D. Allogeneic marrow grafting for hematologic malignancy using HL-A matched donor-recipient sibling pairs / Thomas E.D., Buckner C.D., Rudolph R.H., Fefer A., Storb R., Neiman P.E., Bryant J.I., Chard R.L., Clift R.A., Epstein R.B., Fialkow P.J., Funk D.D., Giblett E.R., Lerner K.G., Reynolds F.A., Slichter S. // *Blood*. – 1971. – T. 38. – №. 3. – C. 267–287.
52. Hansen J.A. Transplantation of marrow from an unrelated donor to a patient with acute leukemia / Hansen J.A., Clift R.A., Thomas E.D., Buckner C.D., Storb R., Giblett E.R. // *The New England Journal of Medicine*. – 1980. – T. 303. – №. 10. – C. 565–567.
53. Singh A.K. Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Historical and Scientific Overview / Singh A.K., McGuirk J.P. // *Cancer Research*. – 2016. – T. 76. – №. 22. – C. 6445–6451.
54. Zhou J. A comparative study of unrelated donor and matched-sibling donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with acquired severe aplastic anemia / Zhou J., Fu Y.W., Liang L.J., Wang Q., Han L.J., Zu Y.L., Zhang Y., Zhu X.H., Yu F.K., Fang B.J., Wei X.D., Song Y.P. // *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. – 2016. – T. 55. – №. 12. – C. 927–931.
55. Sakaguchi H. Comparison of Donor Sources in Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Childhood Acute Leukemia: A Nationwide Retrospective Study / Sakaguchi H., Watanabe N., Matsumoto K., Yabe H., Kato S., Ogawa A., Inagaki J., Goto H., Koh K., Yoshida N., Kato K., Cho Y., Kosaka Y., Takahashi Y., Inoue M., Kato K., Atsuta Y., Miyamura K.; Donor/Source Working Group of Japan Society of Hematopoietic Cell Transplantation // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 22. – №. 12. – C. 2226–2234.
56. Piemontese S. A comparison between allogeneic stem cell transplantation from unmanipulated haploidentical and unrelated donors in acute leukemia / Piemontese S., Ciceri F., Labopin M., Arcese W., Kyrzcz-Krzemien S., Santarone S., Huang H., Beelen D., Gorin N.C., Craddock C., Gulbas Z., Bacigalupo A., Mohty M., Nagler A.; Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) // *Journal of Hematology & Oncology*. – 2017. – T. 10. – №. 1. – C. 24.
57. Bashey A. T-cell replete haploidentical donor transplantation using post-transplant CY: an emerging standard-of-care option for patients who lack an HLA-identical sibling donor / Bashey A., Solomon S.R. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2014. – T. 49. – №. 8. – C. 999–1008.
58. Blaise D. Haploidentical T Cell-Replete Transplantation with Post-Transplantation Cyclophosphamide for Patients in or above the Sixth Decade of Age Compared with Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation from an Human Leukocyte Antigen-Matched Related or Unrelated Donor / Blaise D., Fürst S., Crocchiolo R., El-Cheikh J., Granata

- A., Harbi S., Bouabdallah R., Devillier R., Bramanti S., Lemarie C., Picard C., Chabannon C., Weiller P.J., Faucher C., Mohty B., Vey N., Castagna L. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 22. – №. 1. – C. 119–124.
59. Piemontese S. A survey on unmanipulated haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute leukemia / Piemontese S., Ciceri F., Labopin M., Bacigalupo A., Huang H., Santarone S., Gorin N.C., Koc Y., Wu D., Beelen D., Tischer J., Ehninger G., Arcese W., Nagler A., Mohty M.; Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) // *Leukemia*. – 2015. – T. 29. – №. 5. – C. 1069–1075.
60. De Vries E. Reconstitution of lymphocyte subpopulations after paediatric bone marrow transplantation / De Vries E., van Tol M.J., van den Bergh R.L., Waaijer J.L., ten Dam M.M., Hermans J., Vossen J.M. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2000. – №. 25. – C. 267–275.
61. Van der Heiden P. Control of Cytomegalovirus Viremia after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Review on CMV-Specific T Cell Reconstitution / Van der Heiden P., Marijt E., Falkenburg F., Jedema I. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2018. – T. 24. – №. 9. – C. 1776–1782.
62. Özdemir E. Risk factors associated with late cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation for hematological malignancies / Özdemir E., Saliba R.M., Champlin R.E., Couriel D.R., Giralt S.A., de Lima M., Khouri I.F., Hosing C., Kornblau S.M., Anderlini P., Shpall E.J., Qazilbash M.H., Molldrem J.J., Chemaly R.F., Komanduri K.V. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2007. – T. 40. – №. 2. – C. 125–136.
63. Boeckh M. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity / Boeckh M., Leisenring W., Riddell S.R., Bowden R.A., Huang M.L., Myerson D., Stevens-Ayers T., Flowers M.E.D., Cunningham T., Corey L. // *Blood*. – 2003. – T. 101. – №. 2. – C. 407–414.
64. Ljungman P. Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients / Ljungman P., Hakki M., Boeckh M. // *Hematology/Oncology Clinics of North America*. – 2011. – T. 25. – №. 1. – C. 151–169.
65. Ugarte-Torres A. Donor serostatus has an impact on cytomegalovirus-specific immunity, cytomegalovirus disease incidence, and survival in seropositive hematopoietic cell transplant recipients / Ugarte-Torres A., Hoegh-Petersen M., Liu Y, Zhou F., Williamson T.S., Quinlan D., Sy S., Roa L., Khan F., Fonseca K., Russell J.A., Storek J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2011. – №. 17. – C. 574–585.

66. Kalra A. Impact of donor and recipient cytomegalovirus serostatus on outcomes of antithymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation / Kalra A., Williamson T., Daly A., Savoie M.L., Stewart D.A., Khan F., Storek J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – №. 22. – C. 1654–1663.
67. Zhou W. Impact of donor CMV status on viral infection and reconstitution of multifunction CMV-specific T cells in CMV-positive transplant recipients / Zhou W., Longmate J., Lacey S.F., Palmer J.M., Gallez-Hawkins G., Thao L., Spielberger R., Nakamura R., Forman S.J., Zaia J.A., Diamond D.J. // *Blood*. – 2009. – T. 113. – №. 25. – C. 6465–6476.
68. Borchers S. Tetramer monitoring to assess risk factors for recurrent cytomegalovirus reactivation and reconstitution of antiviral immunity post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Borchers S., Luther S., Lips U., Hahn N., Kotsendorn J., Stadler M., Buchholz S., Diedrich H., Eder M., Koehl U., Ganser A., Mischak-Weissinger E. // *Transplant Infectious Disease*. – 2011. – T. 13. – №. 3. – C. 222–236.
69. Servais S. Response to antiviral therapy in haematopoietic stem cell transplant recipients with cytomegalovirus (CMV) reactivation according to the donor CMV serological status / Servais S., Dumontier N., Biard L., Schnepf N., Resche-Rigon M., Peffault de Latour R., Scieux C., Robin M., Meunier M., Xhaard A., Sicre de Fontbrune F., Le Goff J., Socié G., Simon F., Mazon M.C. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2016. – T. 22. – №. 3. – C. 289.e1–7.
70. Schmidt-Hieber M. CMV serostatus still has an important prognostic impact in de novo acute leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation: a report from the Acute Leukemia Working Party of EBMT / Schmidt-Hieber M., Labopin M., Beelen D., Volin L., Ehninger G., Finke J., Socié G., Schwerdtfeger R., Kröger N., Ganser A., Niederwieser D., Polge E., Blau I.W., Mohty M. // *Blood*. – 2013. – T. 122. – №. 19. – C. 3359–3364.
71. Ljungman P. Donor cytomegalovirus status influences the outcome of allogeneic stem cell transplant: a study by the European group for blood and marrow transplantation / Ljungman P., Brand R., Hoek J., de la Camara R., Cordonnier C., Einsele H., Styczynski J., Ward K.N., Cesaro S.; Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation // *Clinical Infectious Diseases*. – 2014. – T. 59. – №. 4. – C. 473–481.
72. Barnes D.W.H. Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow: II. 1957 / Barnes D.W.H., Loutit J.F. // *Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research*. – 2001. – T. 10. – №. 3. – C. 325–334.
73. Buckner C.D. Allogeneic marrow engraftment following whole body irradiation in a patient with leukemia / Buckner C.D., Epstein R.B., Rudolph R.H., Clift R.A., Storb R., Thomas E.D. // *Blood*. – 1970. – T. 35. – №. 6. – C. 741–750.

74. De Vries M.J. Treatment of mouse lymphosarcoma by total-body x-irradiation and by injection of bone marrow and lymph-node cells / De Vries M.J., Vos O. // *Journal of the National Cancer Institute*. – 1958. – T. 21. – №. 6. – C.1117–1129.
75. Mathé G. Adoptive immunotherapy of acute leukemia: experimental and clinical results / Mathé G., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Cattani A., Schneider M. // *Cancer Research*. – 1965. – T. 25. – №. 9. – C. 1525–1531.
76. Santos G.W. Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide / Santos G.W., Tutschka P.J., Brookmeyer R., Saral R., Beschornier W.E., Bias W.B., Braine H.G., Burns W.H., Elfenbein G.J., Kaizer H. // *The New England Journal of Medicine*. – 1983. – T. 309. – №. 22. – C. 1347–1353.
77. Tutschka P.J. Marrow transplantation in acute leukemia following busulfan and cyclophosphamide / Tutschka P.J., Santos G.W., Elfenbein G.J. // *Haematology and blood transfusion*. – 1980. – №. 25. – C. 375–380.
78. Lu C. Preliminary results of high-dose busulfan and cyclophosphamide with syngeneic or autologous bone marrow rescue / Lu C., Braine H.G., Kaizer H., Saral R., Tutschka P.J., Santos G.W. // *Cancer treatment reports*. – 1984. – T. 68. – №. 5. – C. 711–717.
79. Fefer A. Bone-marrow transplantation for hematologic neoplasia in 16 patients with identical twins / Fefer A., Einstein A.B., Thomas E.D., Buckner C.D., Clift R.A., Glucksberg H., Neiman P.E., Storb R. // *The New England Journal of Medicine*. – 1974. – T. 290. – №. 25. – C. 1389–1393.
80. Bertz H. Busulfan/cyclophosphamide in volunteer unrelated donor (VUD) BMT: excellent feasibility and low incidence of treatment-related toxicity / Bertz H., Potthoff K., Mertelsmann R., Finke J. // *Bone Marrow Transplantation*. – 1997. – T. 19. – №. 12. – C. 1169–1173.
81. Uberti J.P. Comparative analysis of BU and CY versus CY and TBI in full intensity unrelated marrow donor transplantation for AML, CML and myelodysplasia / Uberti J.P., Agovi M.A., Tarima S., Haagenson M., Gandham S., Anasetti C., Baker K.S., Bolwell B.J., Bornhauser M., Chan K.W., Copelan E., Davies S.M., Finke J., Hale G.A., Kollman C., McCarthy P.L., Ratanatharathorn V., Ringdén O., Weisdorf D.J., Rizzo J.D. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2011. – T. 46. – №. 1. – C. 34–43.
82. Grochow L.B. Pharmacokinetics of busulfan: correlation with veno-occlusive disease in patients undergoing bone marrow transplantation / Grochow L.B., Jones R.J., Brundrett R.B., Braine H.G., Chen T.L., Saral R., Santos G.W., Colvin O.M. // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 1989. – T. 25. – №. 1. – C. 55–61.

83. Kashyap A. Intravenous versus oral busulfan as part of a busulfan/cyclophosphamide preparative regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: decreased incidence of hepatic venoocclusive disease (HVOD), HVOD-related mortality, and overall 100-day mortality / Kashyap A., Wingard J., Cagnoni P., Roy J., Tarantolo S., Hu W., Blume K., Niland J., Palmer J.M., Vaughan W., Fernandez H., Champlin R., Forman S., Andersson B.S. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2002. – T. 8. – №. 9. – C. 493–500.
84. Nagler A. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for acute myeloid leukemia in remission: comparison of intravenous busulfan plus cyclophosphamide (Cy) versus total-body irradiation plus Cy as conditioning regimen – a report from the acute leukemia working party of the European group for blood and marrow transplantation / Nagler A., Rocha V., Labopin M., Unal A., Ben Othman T., Campos A., Volin L., Poire X., Aljurf M., Masszi T., Socié G., Sengelov H., Michallet M., Passweg J., Veelken H., Yakoub-Agha I., Shimoni A., Mohty M. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2013. – T. 31. – №. 28. – C. 3549–3556.
85. Tichelli A. Late complications after hematopoietic stem cell transplantation / Tichelli A., Rovó A., Passweg J., Schwarze C.P., Van Lint M.T., Arat M., Socié G. // *Expert Review of Hematology*. – 2009. – T. 2. – №. 5. – C. 583–601.
86. MacVittie T.J. Immune cell reconstitution after exposure to potentially lethal doses of radiation in the nonhuman primate / MacVittie T.J., Bennett A.W., Cohen M.V., Farese A.M., Higgins A., Hankey K.G. // *Health Physics*. – 2014. – T. 106. – №. 1. C. 84–96.
87. Peggs K.S. Immune reconstitution following haematopoietic stem cell transplantation / Peggs K.S., Mackinnon S. // *British Journal of Haematology*. – 2004. – T. 124. – №. 4. – C. 407–420.
88. Mackall C.L. Distinctions between CD8⁺ and CD4⁺ T-cell regenerative pathways result in prolonged T-cell subset imbalance after intensive chemotherapy / Mackall C.L., Fleisher T.A., Brown M.R., Andrich M.P., Chen C.C., Feuerstein I.M., Magrath I.T., Wexler L.H., Dimitrov D.S., Gress R.E. // *Blood*. – 1997. – T. 89. – №. 10. – C. 3700–3707.
89. Shlomchik W.D. Graft-versus-host disease / Shlomchik W.D. // *Nature Reviews Immunology*. – 2007. – T. 7. – №. 5. – C. 340–352.
90. Bleakley M. Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect / Bleakley M., Riddell S.R. // *Nature Reviews Cancer*. – 2004. – T. 4. – №. 5. – C. 371–380.
91. Yakoub-Agha I. Immune reconstitution following myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the impact of expanding CD28 negative CD8⁺ T cells on relapse / Yakoub-Agha I., Saule P., Magro L., Cracco P., Duhamel A., Coiteux V., Bruno B., Dufossé F., Jouet J.P., Dessaint J.P., Labalette M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2009. – T. 15. – №. 4. – C. 496–504.

92. Jiménez M. Immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens / Jiménez M., Ercilla G., Martínez C. // *Leukemia*. – 2007. – T. 21. – №. 8. – C. 1628–1637.
93. Slavin S. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases / Slavin S., Nagler A., Naparstek E., Kapelushnik Y., Aker M., Cividalli G., Varadi G., Kirschbaum M., Ackerstein A., Samuel S., Amar A., Brautbar C., Ben-Tal O., Eldor A., Or R. // *Blood*. – 1998. – T. 91. – №. 3. – C. 756–763.
94. Giralt S. Melphalan and purine analog-containing preparative regimens: reduced-intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation / Giralt S., Thall P.F., Khouri I., Wang X., Braunschweig I., Ippolitti C., Claxton D., Donato M., Bruton J., Cohen A., Davis M., Andersson B.S., Anderlini P., Gajewski J., Kornblau S., Andreeff M., Przepiorka D., Ueno N.T., Molldrem J., Champlin R. // *Blood*. – 2001. – T. 97. – №. 3. – C. 631–637.
95. Shimoni A. Hematopoietic stem-cell transplantation from unrelated donors in elderly patients (age >55 years) with hematologic malignancies: older age is no longer a contraindication when using reduced intensity conditioning / Shimoni A., Kröger N., Zabelina T., Ayuk F., Hardan I., Yeshurun M., Shem-Tov N., Avigdor A., Ben-Bassat I., Zander A.R., Nagler A. // *Leukemia*. – 2005. – T. 19. – №. 1. – C. 7–12.
96. Geyer M.B. A comparison of immune reconstitution and graft-versus-host disease following myeloablative conditioning versus reduced toxicity conditioning and umbilical cord blood transplantation in paediatric recipients / Geyer M.B., Jacobson J.S., Freedman J., George D., Moore V., van de Ven C., Satwani P., Bhatia M., Garvin J.H., Bradley M.B., Harrison L., Morris E., Della-Latta P., Schwartz J., Baxter-Lowe L.A., Cairo M.S. // *British Journal of Haematology*. – 2011. – T. 155. – №. 2. – C. 218–234.
97. Dreger P. Treatment-related mortality and graft-versus-leukemia activity after allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia using intensity-reduced conditioning / Dreger P., Brand R., Hansz J., Milligan D., Corradini P., Finke J., Deliliers G.L., Martino R., Russell N., Van Biezen A., Michallet M., Niederwieser D. // *Leukemia*. – 2003. – T. 17. – №. 5. – C. 841–848.
98. Hamadani M. Higher busulfan dose intensity does not improve outcomes of patients undergoing allogeneic haematopoietic cell transplantation following fludarabine, busulfan-based reduced toxicity conditioning / Hamadani M., Craig M., Phillips G.S., Abraham J., Tse

- W., Cumpston A., Gibson L., Remick S.C., Bunner P., Leadmon S., Elder P., Hofmeister C., Penza S., Efebera Y., Andritsos L., Garzon R., Benson D.M. Jr., Blum W., Devine S.M. // *Hematological Oncology*. – 2011. – T. 29. – №. 4. – C. 202–210.
99. Martino R. Evidence for a graft-versus-leukemia effect after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes / Martino R., Caballero M.D., Pérez-Simón J.A., Canals C., Solano C., Urbano-Ispizua A., Bargay J., León A., Sarrá J., Sanz G.F., Moraleda J.M., Brunet S., San Miguel J., Sierra J. // *Blood*. – 2002. – T. 100. – №. 6. – C. 2243–2245.
100. Eom K.S. Comparable long-term outcomes after reduced-intensity conditioning versus myeloablative conditioning allogeneic stem cell transplantation for adult high-risk acute lymphoblastic leukemia in complete remission / Eom K.S., Shin S.H., Yoon J.H., Yahng S.A., Lee S.E., Cho B.S., Kim Y.J., Kim H.J., Min C.K., Kim D.W., Lee J.W., Min W.S., Park C.W., Lee S. // *American Journal of Hematology*. – 2013. – T. 88. – №. 8. – C. 634–641.
101. Morecki S. Immune reconstitution following allogeneic stem cell transplantation in recipients conditioned by low intensity vs myeloablative regimen / Morecki S., Gelfand Y., Nagler A., Or R., Naparstek E., Varadi G., Engelhard D., Akerstein A., Slavin S. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2001. – T. 28. – №. 3. – C. 243–249.
102. Jiménez M. Reduced-intensity conditioning regimen preserves thymic function in the early period after hematopoietic stem cell transplantation / Jiménez M., Martínez C., Ercilla G., Carreras E., Urbano-Ispizua A., Aymerich M., Villamor N., Amézaga N., Rovira M., Fernández-Avilés F., Gaya A., Martino R., Sierra J., Montserrat E. // *Experimental Hematology*. – 2005. – T. 33. – №. 10. – C. 1240–1248.
103. Bahceci E. Early reconstitution of the T-cell repertoire after non-myeloablative peripheral blood stem cell transplantation is from post-thymic T-cell expansion and is unaffected by graft-versus-host disease or mixed chimaerism / Bahceci E., Epperson D., Douek D.C., Melenhorst J.J., Childs R.C., Barrett A.J. // *British Journal of Haematology*. – 2003. – T. 122. – №. 6. – C. 934–943.
104. Maris M. Immunologic recovery after hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning / Maris M., Boeckh M., Storer B., Dawson M., White K., Keng M., Sandmaier B., Maloney D., Storb R., Storek J. // *Experimental Hematology*. – 2003. – T. 31. – №. 10. – C. 941–952.
105. Busca A. Immune reconstitution and early infectious complications following nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation / Busca A., Lovisone E., Aliberti S.,

- Locatelli F., Serra A., Scaravaglio P., Omedè P., Rossi G., Cirillo D., Barbui A., Ghisetti V., Dall'Omo A.M., Falda M. // *Hematology*. – 2003. – T. 8. – №. 5. – C. 303–311.
106. El-Jawahri A. Improved Treatment-Related Mortality and Overall Survival of Patients with Grade IV Acute GVHD in the Modern Years / El-Jawahri A., Li S., Antin J.H., Spitzer T.R., Armand P.A., Koreth J., Nikiforow S., Ballen K.K., Ho V.T., Alyea E.P., Dey B.R., McAfee S.L., Glotzbecker B.E., Soiffer R.J., Cutler C.S., Chen Y.B. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 22. – №. 5. – C. 910–918.
107. Scarisbrick J.J. A multicentre UK study of GVHD following DLI: rates of GVHD are high but mortality from GVHD is infrequent / Scarisbrick J.J., Dignan F.L., Tulpule S., Gupta E.D., Kolade S., Shaw B., Evison F., Shah G., Tholouli E., Mufti G., Pagliuca A., Malladi R., Raj K. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 50. – №. 1. – C. 62–67.
108. Billingham R.E. The biology of graft-versus-host reactions / Billingham R.E. // *Harvey Lecture*. – 1966. – №. 62. – C. 21–78.
109. Jamil M.O. State-of-the-art acute and chronic GVHD treatment / Jamil M.O., Mineishi S. // *International Journal of Hematology*. – 2015. – T. 101. – №. 5. – C. 452–466.
110. Flowers M.E. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria / Flowers M.E., Inamoto Y., Carpenter P.A., Lee S.J., Kiem H.P., Petersdorf E.W., Pereira S.E., Nash R.A., Mielcarek M., Fero M.L., Warren E.H., Sanders J.E., Storb R.F., Appelbaum F.R., Storer B.E., Martin P.J. // *Blood*. – 2011. – T. 117. – №. 11. – C. 3214–3219.
111. Gratwohl A. Acute graft-versus-host disease: grade and outcome in patients with chronic myelogenous leukemia / Gratwohl A., Hermans J., Apperley J., Arcese W., Bacigalupo A., Bandini G., di Bartolomeo P., Boogaerts M., Bosi A., Carreras E. Working Party Chronic Leukemia of the European Group for Blood and Marrow Transplantation // *Blood*. – 1995. – T. 86. – №. 2. – C. 813–818.
112. MacMillan M.L. Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems / MacMillan M.L., Weisdorf D.J., Wagner J.E., DeFor T.E., Burns L.J., Ramsay N.K., Davies S.M., Blazar B.R. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2002. – T. 8. – №. 7. – C. 387–394.
113. Anasetti C. Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma / Anasetti C., Beatty P.G., Storb R., Martin P.J., Mori M., Sanders J.E., Thomas E.D., Hansen J.A. // *Human Immunology*. – 1990. – T. 29. – №. 2. – C. 79–91.

114. Gale R.P. Risk factors for acute graft-versus-host disease / Gale R.P., Bortin M.M., van Bekkum D.W., Biggs J.C., Dicke K.A., Gluckman E., Good R.A., Hoffmann R.G., Kay H.E., Kersey J.H. // *British Journal of Haematology*. – 1987. – T. 67. – №. 4. – C. 397–406.
115. Hahn T. Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia / Hahn T., McCarthy P.L. Jr., Zhang M.J., Wang D., Arora M., Frangoul H., Gale R.P., Hale G.A., Horan J., Isola L., Maziarz R.T., van Rood J.J., Gupta V., Halter J., Reddy V., Tiberghien P., Litzow M., Anasetti C., Pavletic S., Ringdén O. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – T. 26. – №. 35. – C. 5728–5734.
116. Lee S.J. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse / Lee S.J., Klein J.P., Barrett A.J., Ringden O., Antin J.H., Cahn J.Y., Carabasi M.H., Gale R.P., Giralt S., Hale G.A., Ilhan O., McCarthy P.L., Socie G., Verdonck L.F., Weisdorf D.J., Horowitz M.M. // *Blood*. – 2002. – T. 100. – №. 2. – C. 406–414.
117. Storb R. Predictive factors in chronic graft-versus-host disease in patients with aplastic anemia treated by marrow transplantation from HLA-identical siblings / Storb R., Prentice R.L., Sullivan K.M., Shulman H.M., Deeg H.J., Doney K., Buckner C.D., Clift R.A., Witherspoon R.P., Appelbaum F.A., Sanders J.E., Stewart P.S., Thomas E.D. // *Annals of Internal Medicine*. – 1983. – T. 98. – №. 4. – C. 461–466.
118. Cutler C. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis / Cutler C., Giri S., Jeyapalan S., Paniagua D., Viswanathan A., Antin J.H. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2001. – T. 19. – №. 16. – C. 3685–3691.
119. Ruutu T. Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice / Ruutu T., Gratwohl A., de Witte T., Afanasyev B., Apperley J., Bacigalupo A., Dazzi F., Dreger P., Duarte R., Finke J., Garderet L., Greinix H., Holler E., Kröger N., Lawitschka A., Mohty M., Nagler A., Passweg J., Ringdén O., Socié G., Sierra J., Sureda A., Wiktor-Jedrzejczak W., Madrigal A., Niederwieser D. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2014. – T. 49. – №. 2. – C. 168–173.
120. Martin P.J. First- and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation / Martin P.J., Rizzo J.D., Wingard J.R., Ballen K., Curtin P.T., Cutler C., Litzow M.R., Nieto Y., Savani B.N., Schriber J.R., Shaughnessy P.J., Wall D.A., Carpenter P.A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2012. – T. 18. – №. 8. – C. 1150–1163.
121. Aversa F. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse / Aversa F., Terenzi A., Tabilio A.,

- Falzetti F., Carotti A., Ballanti S., Felicini R., Falcinelli F., Velardi A., Ruggeri L., Aloisi T., Saab J.P., Santucci A., Perruccio K., Martelli M.P., Mecucci C., Reisner Y., Martelli M.F. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – T. 23. – №. 15. – C. 3447–3454.
122. Abu-Dalle I. Extracorporeal photopheresis in steroid-refractory acute or chronic graft-versus-host disease: results of a systematic review of prospective studies / Abu-Dalle I., Reljic T., Nishihori T., Antar A., Bazarbachi A., Djulbegovic B., Kumar A., Kharfan-Dabaja M.A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2014. – T. 20. – №. 11. – C. 1677–1686.
123. Nash R.A. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors / Nash R.A., Antin J.H., Karanes C., Fay J.W., Avalos B.R., Yeager A.M., Przepiorka D., Davies S., Petersen F.B., Bartels P., Buell D., Fitzsimmons W., Anasetti C., Storb R., Ratanatharathorn V. // *Blood*. – 2000. – T. 96. – №. 6. – C. 2062–2068.
124. Ringdén O. Methotrexate, cyclosporine, or both to prevent graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplants for early leukemia? / Ringdén O., Horowitz M.M, Sondel P., Gale R.P., Biggs J.C., Champlin R.E., Deeg H.J., Dicke K., Masaoka T., Powles R.L. // *Blood*. – 1993. – T. 81. – №. 4. – C. 1094–1101.
125. Storb R. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia / Storb R., Deeg H.J., Whitehead J., Appelbaum F., Beatty P., Bensinger W., Buckner C.D., Clift R., Doney K., Farewell V. // *The New England Journal of Medicine*. – 1986. – T. 314. – №. 12. – C. 729–735.
126. Ratanatharathorn V. Phase III study comparing methotrexate and tacrolimus (prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA-identical sibling bone marrow transplantation / Ratanatharathorn V., Nash R.A., Przepiorka D., Devine S.M., Klein J.L., Weisdorf D., Fay J.W., Nademanee A., Antin J.H., Christiansen N.P., van der Jagt R., Herzig R.H., Litzow M.R., Wolff S.N., Longo W.L., Petersen F.B., Karanes C., Avalos B., Storb R., Buell D.N., Maher R.M., Fitzsimmons W.E., Wingard J.R. // *Blood*. – 1998. – T. 92. – №. 7. – C. 2303–2314.
127. Hamilton B.K. Cyclosporine in combination with mycophenolate mofetil versus methotrexate for graft versus host disease prevention in myeloablative HLA-identical sibling donor allogeneic hematopoietic cell transplantation / Hamilton B.K., Rybicki L., Dean R., Majhail N.S., Haddad H., Abounader D., Hanna R., Sobecks R., Duong H., Hill B.T., Copelan E., Bolwell B., Kalaycio M. // *American Journal of Hematology*. – 2015. – T. 90. – №. 2. – C. 144–148.

128. Cutler C. Extended follow-up of methotrexate-free immunosuppression using sirolimus and tacrolimus in related and unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation / Cutler C., Li S., Ho V.T., Koreth J., Alyea E., Soiffer R.J., Antin J.H. // *Blood*. – 2007. – T. 109. – №. 7. – C. 3108–3114.
129. Fløisand Y. Ultra-short course sirolimus contributes to effective GVHD prophylaxis after reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation / Fløisand Y., Brinch L., Gedde-Dahl T., Tjønnfjord G.E., Dybedal I., Holte H., Heldal D., Torfoss D., Aurlien E., Lauritzen G.F., Fosså A., Lehne G., Baggerød E., Kvalheim G., Egeland T., Bishop M.R., Fowler D.H., Kolstad A. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2012. – T. 47. – №. 12. – C. 1552–1557.
130. Cutler C. Sirolimus and thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Cutler C., Henry N.L., Magee C., Li S., Kim H.T., Alyea E., Ho V., Lee S.J., Soiffer R., Antin J.H. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2005. – T. 11. – №. 7. – C. 551–557.
131. Weiner S.M. Pneumonitis associated with sirolimus: clinical characteristics, risk factors and outcome - a single-centre experience and review of the literature / Weiner S.M., Sellin L., Vonend O., Schenker P., Buchner N.J., Flecken M., Viebahn R., Rump L.C. // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2007. – T. 22. – №. 12. – C. 3631–3637.
132. Kuypers D.R. . Clinical use of rapamycin in renal allograft recipients identifies its relevant toxicity profile and raises unsolved questions: a single-center experience / Kuypers D.R., Herelixa A., Vanrenterghem Y. // *Transplantation Proceedings*. – 2003. – T. 35. – №. 3. – C. 138–142.
133. Yu C. Synergism between mycophenolate mofetil and cyclosporine in preventing graft-versus-host disease among lethally irradiated dogs given DLA-nonidentical unrelated marrow grafts / Yu C., Seidel K., Nash R.A., Deeg H.J., Sandmaier B.M., Barsoukov A., Santos E., Storb R. // *Blood*. – 1998. – T. 91. – №. 7. – C. 2581–2587.
134. Allison A.C. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF) / Allison A.C., Eugui E.M. // *Clinical Transplantation*. – 1996. – T. 10. – №. 1. – C. 77– 84.
135. McSweeney P.A. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects / McSweeney P.A., Niederwieser D., Shizuru J.A., Sandmaier B.M., Molina A.J., Maloney D.G., Chauncey T.R., Gooley T.A., Hegenbart U., Nash R.A., Radich J., Wagner J.L., Minor S., Appelbaum F.R., Bensinger W.I., Bryant E., Flowers M.E., Georges G.E., Grumet F.C., Kiem

- H.P., Torok-Storb B., Yu C., Blume K.G., Storb R.F. // *Blood*. – 2001. – T. 97. – №. 11. – C. 3390–3400.
136. Maris M.B. HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for patients with hematologic malignancies / Maris M.B., Niederwieser D., Sandmaier B.M., Storer B., Stuart M., Maloney D., Petersdorf E., McSweeney P., Pulsipher M., Woolfrey A., Chauncey T., Agura E., Heimfeld S., Slattery J., Hegenbart U., Anasetti C., Blume K., Storb R. // *Blood*. – 2003. – T. 102. – №. 6. – C. 2021–2030.
137. Zander A.R. Use of a five-agent GVHD prevention regimen in recipients of unrelated donor marrow / Zander A.R., Zabelina T., Kröger N., Renges H., Krüger W., Lölliger C., Dürken M., Stockschröder M., de Wit M., Wacker-Backhaus G., Bielack S., Jaburg N., Rüssmann B., Erttmann R., Kabisch H. // *Bone Marrow Transplantation*. – 1999. – T. 23. – №. 9. – C. 889–893.
138. Byrne J.L. The effect of the serotherapy regimen used and the marrow cell dose received on rejection, graft-versus-host disease and outcome following unrelated donor bone marrow transplantation for leukaemia / Byrne J.L., Stainer C., Cull G., Haynes A.P., Bessell E.M., Hale G., Waldmann H., Russell N.H. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2000. – T. 25. – №. 4. – C. 411–417.
139. Finke J. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors using in vivo anti-T-cell globulin / Finke J., Bertz H., Schmoor C., Veelken H., Behringer D., Wäsch R., Kunzmann R., Heidecker L., Lang H., Meyer-König U., Mertelsmann R. // *British Journal of Haematology*. – 2000. – T. 111. – №. 1. – C. 303–313.
140. Sierra J. Unrelated donor marrow transplantation for acute myeloid leukemia: an update of the Seattle experience / Sierra J., Storer B., Hansen J.A., Martin P.J., Petersdorf E.W., Woolfrey A., Matthews D., Sanders J.E., Storb R., Appelbaum F.R., Anasetti C. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2000. – T. 26. – №. 4. – C. 397–404.
141. Hansen J.A. Bone marrow transplants from unrelated donors for patients with chronic myeloid leukemia / Hansen J.A., Gooley T.A., Martin P.J., Appelbaum F., Chauncey T.R., Clift R.A., Petersdorf E.W., Radich J., Sanders J.E., Storb R.F., Sullivan K.M., Anasetti C. // *The New England Journal of Medicine*. – 1998. – T. 338. – №. 14. – C. 962–968.
142. Ruck T. Alemtuzumab in Multiple Sclerosis: Mechanism of Action and Beyond / Ruck T., Bittner S., Wiendl H., Meuth S.G. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – T. 16. – №. 7. – C. 16414–16439.

143. Gundroo A. Alemtuzumab (Campath-1H) experience in kidney transplantation what we have learned; current practices; and scope for the future? / Gundroo A., Zachariah M., Singh N., Sharma R. // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2015. – T. 20. – №. 6. – C. 638–642.
144. Abdel-Azim H. Unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of non-malignant genetic diseases: An alemtuzumab based regimen is associated with cure of clinical disease; earlier clearance of alemtuzumab may be associated with graft rejection / Abdel-Azim H., Mahadeo K.M., Zhao Q., Khazal S., Kohn D.B., Crooks G.M., Shah A.J., Kapoor N. // *American Journal of Hematology*. – 2015. – T. 90. – №. 11. – C. 1021–1026.
145. Hale G. Improving the outcome of bone marrow transplantation by using CD52 monoclonal antibodies to prevent graft-versus-host disease and graft rejection / Hale G., Zhang M.J., Bunjes D., Prentice H.G., Spence D., Horowitz M.M., Barrett A.J., Waldmann H. // *Blood*. – 1998. – T. 92. – №. 12. – C. 4581–4590.
146. Shah A.J. The effects of Campath 1H upon graft-versus-host disease, infection, relapse, and immune reconstitution in recipients of pediatric unrelated transplants / Shah A.J., Kapoor N., Crooks G.M., Weinberg K.I., Azim H.A., Killen R., Kuo L., Rushing T., Kohn D.B., Parkman R. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2007. – T. 13. – №. 5. – C. 584–593.
147. Robin M. Alemtuzumab versus anti-thymocyte globulin in patients transplanted from an unrelated donor after a reduced intensity conditioning / Robin M., Raj K., Chevret S., Gauthier J., de Lavallade H., Michonneau D., McLornan D., Peffault de Latour R., Potter V., Kulasekararaj A., Sicre de Fontbrune F., Pagliuca A., Yakoub-Agha I., Socié G., Mufti G.J. // *European Journal of Haematology*. – 2018. – T. 101. – №. 4. – C. 466–474.
148. O'Donnell P.V. Nonmyeloablative bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched related donors using posttransplantation cyclophosphamide / O'Donnell P.V., Luznik L., Jones R.J., Vogelsang G.B., Leffell M.S., Phelps M., Rhubart P., Cowan K., Piantados S., Fuchs E.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2002. – №. 8. – C. 377–386.
149. Kasamon Y.L. Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome / Kasamon Y.L., Luznik L., Leffell M.S., Kowalski J., Tsai H.L., Bolaños-Meade J., Morris L.E., Crilley P.A., O'Donnell P.V., Rossiter N., Huff C.A., Brodsky R.A., Matsui W.H., Swinnen L.J., Borrello I., Powell J.D., Ambinder R.F., Jones R.J., Fuchs E.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2010. – T. 16. – №. 4. – C. 482–489.
150. Ciurea S.O. Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation / Ciurea S.O., Mulanovich V.,

- Saliba R.M., Bayraktar U.D., Jiang Y., Bassett R., Wang S.A., Konopleva M., Fernandez-Vina M., Montes N., Bosque D., Chen J., Rondon G., Alatrash G., Alousi A., Bashir Q., Korbling M., Qazilbash M., Parmar S., Shpall E., Nieto Y., Hosing C., Kebriaei P., Khouri I., Popat U., de Lima M., Champlin R.E. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2012. – T. 18. – №. 12. – C. 1835–1844.
151. Solomon S.R. Haploidentical transplantation using T cell replete peripheral blood stem cells and myeloablative conditioning in patients with high-risk hematologic malignancies who lack conventional donors is well tolerated and produces excellent relapse-free survival: results of a prospective phase II trial / Solomon S.R., Sizemore C.A., Sanacore M., Zhang X., Brown S., Holland H.K., Morris L.E., Bashey A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2012. – T. 18. – №. 12. – C. 1859–1866.
152. Munchel A. Nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high dose, post-transplantation cyclophosphamide / Munchel A., Kesserwan C., Symons H.J., Luznik L., Kasamon Y.L., Jones R.J., Fuchs E.J. // *Pediatric Reports*. – 2011. – T. 3. – №. 2. – C. e15.
153. Kanakry C.G. Multi-institutional study of post-transplantation cyclophosphamide as single-agent graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation using myeloablative busulfan and fludarabine conditioning / Kanakry C.G., O'Donnell P.V., Furlong T., de Lima M.J., Wei W., Medeot M., Mielcarek M., Champlin R.E., Jones R.J., Thall P.F., Andersson B.S., Luznik L. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2014. – T. 32. – №. 31. – C. 3497–3505.
154. Jacoby E. Single-Agent Post-Transplantation Cyclophosphamide as Graft-versus-Host Disease Prophylaxis after Human Leukocyte Antigen-Matched Related Bone Marrow Transplantation for Pediatric and Young Adult Patients with Hematologic Malignancies / Jacoby E., Chen A., Loeb D.M., Gamper C.J., Zambidis E., Llosa N.J., Huo J., Cooke K.R., Jones R., Fuchs E., Luznik L., Symons H.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 22. – №. 1. – C. 112–118.
155. Bosch M. Immune reconstitution after anti-thymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation / Bosch M., Dhadda M., Hoegh-Petersen M., Liu Y., Hagel L.M., Podgorny P., Ugarte-Torres A., Khan F.M., Luider J., Auer-Grzesiak I., Mansoor A., Russell J.A., Daly A., Stewart D.A., Maloney D., Boeckh M., Storek J. // *Cytherapy*. – 2012. – T. 14. – №. 10. – C. 1258–1275.
156. Retière C. Impact on early outcomes and immune reconstitution of high-dose post-transplant cyclophosphamide vs anti-thymocyte globulin after reduced intensity conditioning peripheral

- blood stem cell allogeneic transplantation / Retière C., Willem C., Guillaume T., Vié H., Gautreau-Rolland L., Scotet E., Saulquin X., Gagne K., Béné M.C., Imbert B.M., Clemenceau B., Peterlin P., Garnier A., Chevallier P. // *Oncotarget*. – 2018. – T. 9. – №. 14. – C. 11451–11464.
157. Servais S. Impact of Pre-Transplant Anti-T Cell Globulin (ATG) on Immune Recovery after Myeloablative Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation / Servais S., Menten-Dedoyart C., Beguin Y., Seidel L., Gothot A., Daulne C., Willems E., Delens L., Humblet-Baron S., Hannon M., Baron F. // *PLoS One*. – 2015. – T. 10. – №. 6. – C. e0130026.
158. Storek J. Rabbit anti-T cell globulin in allogeneic hematopoietic cell transplantation / Storek J., Mohty M., Boelens J.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 21. – №. 6. – C. 959–970.
159. Cieri N. Tracking T cell dynamics in the first month after haploidentical HSCT with post-transplant cyclophosphamide reveals a predominant contribution of memory stem T cells to the early phase of immune reconstitution / Cieri N., Peccatori J., Oliveiera G., Greco R., Markt S., Lunghi F., Ciceri F., Bonini C. // *Blood*. – 2013. – T. 122. – №. 21. – C. 4615.
160. Al-Homsi A.S. Post-transplant high-dose cyclophosphamide for the prevention of graft-versus-host disease / Al-Homsi A.S., Roy T.S., Cole K., Feng Y., Duffner U. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 21. – №. 4. – C. 604–611.
161. Socié G. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation / Socié G., Salooja N., Cohen A., Rovelli A., Carreras E., Locasciulli A., Korthof E., Weis J., Levy V., Tichelli A. // *Blood*. – 2003. – T. 101. – №. 9. – C. 3373–3385.
162. Krenger W. Thymic T-cell development in allogeneic stem cell transplantation / Krenger W., Blazar B.R., Holländer G.A. // *Blood*. – 2011. – T. 117. – №. 25. – C. 6768–6776.
163. Baron F. Kinetics of engraftment in patients with hematologic malignancies given allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning / Baron F., Baker J.E., Storb R., Gooley T.A., Sandmaier B.M., Maris M.B., Maloney D.G., Heimfeld S., Oparin D., Zellmer E., Radich J.P., Grumet F.C., Blume K.G., Chauncey T.R., Little M.T. // *Blood*. – 2004. – T. 104. – №. 8. – C. 2254–2262.
164. Baron F. Chimerism and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning / Baron F., Sandmaier B.M. // *Leukemia*. – 2006. – T. 20. – №. 10. – C. 1690–1700.
165. Bourgeois C. T cell homeostasis in steady state and lymphopenic conditions / Bourgeois C., Stockinger B. // *Immunology Letters*. – 2006. – T. 107. – №. 2. – C. 89–92.

166. Oehen S. Naïve cytotoxic T lymphocytes spontaneously acquire effector function in lymphocytopenic recipients: A pitfall for T cell memory studies? / Oehen S., Brduscha-Riem K. // *European Journal of Immunology*. – 1999. – T. 29. – №. 2. – C. 608–614.
167. Ge Q. Dependence of lymphopenia-induced T cell proliferation on the abundance of peptide/MHC epitopes and strength of their interaction with T cell receptors / Ge Q., Rao V.P., Cho B.K., Eisen H.N., Chen J. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2001. – T. 98. – №. 4. – C. 1728–1733.
168. Jameson S.C. T cell homeostasis: keeping useful T cells alive and live T cells useful / Jameson S.C. // *Seminars in Immunology*. – 2005. – T. 17. – №. 3. – C. 231–237.
169. Pénit C. Cell expansion and growth arrest phases during the transition from precursor (CD4⁺8⁻) to immature (CD4⁺8⁺) thymocytes in normal and genetically modified mice / Pénit C., Lucas B., Vasseur F. // *Journal of Immunology*. – 1995. – T. 154. – №. 10. – C. 5103–5113.
170. Godfrey D.I. A developmental pathway involving four phenotypically and functionally distinct subsets of CD3⁺CD4⁺CD8⁻ triple-negative adult mouse thymocytes defined by CD44 and CD25 expression / Godfrey D.I., Kennedy J., Suda T., Zlotnik A. // *Journal of Immunology*. – 1993. – T. 150. – №. 10. – C. 4244–4252.
171. Gardner J.M. AIRE in the thymus and beyond / Gardner J.M., Fletcher A.L., Anderson M.S., Turley S.J. // *Current Opinion in Immunology*. – 2009. – T. 21. – №. 6. – C. 582–589.
172. Scollay R. Thymic emigration: conveyor belts or lucky dips? / Scollay R., Godfrey D.I. // *Immunology Today*. – 1995. – T. 16. – №. 6. – C. 268–273.
173. Weinberg K. Factors affecting thymic function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Weinberg K., Blazar B.R., Wagner J.E., Agura E., Hill B.J., Smogorzewska M., Koup R.A., Betts M.R., Collins R.H., Douek D.C. // *Blood*. – 2001. – T. 97. – №. 5. – C. 1458–466.
174. Jiménez M. Clinical factors influencing T-cell receptor excision circle (TRECs) counts following allogeneic stem cell transplantation in adults / Jiménez M., Martínez C., Ercilla G., Carreras E., Urbano-Ispizua A., Aymerich M., Villamor N., Amézaga N., Rovira M., Fernández-Avilés F., Montserrat E. // *Transplant Immunology*. – 2006. – T. 16. – №. 1. – C. 52–59.
175. Castermans E. Thymic recovery after allogeneic hematopoietic cell transplantation with non-myeloablative conditioning is limited to patients younger than 60 years of age / Castermans E., Hannon M., Dutrieux J., Humblet-Baron S., Seidel L., Cheynier R., Willems E., Gothot A., Vanbellinghen J.F., Geenen V., Sandmaier B.M., Storb R., Beguin Y., Baron F. // *Haematologica*. – 2011. – T. 96. – №. 2. – C. 298–306.

176. Eyrich M. Onset of thymic recovery and plateau of thymic output are differentially regulated after stem cell transplantation in children / Eyrich M., Wollny G., Tzaribashev N., Dietz K., Brügger D., Bader P., Lang P., Schilbach K., Winkler B., Niethammer D., Schlegel P.G. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2005. – T. 11. – №. 3. – C. 194–205.
177. Lynch H.E. Thymic involution and immune reconstitution / Lynch H.E., Goldberg G.L., Chidgey A., Van den Brink M.R., Boyd R., Sempowski G.D. // *Trends in Immunology*. – 2009. – T. 30. – №. 7. – C. 366–373.
178. Heng T.S. Getting back at nature: understanding thymic development and overcoming its atrophy / Heng T.S., Chidgey A.P., Boyd R.L. // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2010. – T. 10. – №. 4. – C. 425–433.
179. Small T.N. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions / Small T.N., Papadopoulos E.B., Boulad F., Black P., Castro-Malaspina H., Childs B.H., Collins N., Gillio A., George D., Jakubowski A., Heller G., Fazzari M., Kernan N., MacKinnon S., Szabolcs P., Young J.W., O'Reilly R.J. // *Blood*. – 1999. – T. 93. – №. 2. – C. 467–480.
180. Chung B. Radiosensitivity of thymic interleukin-7 production and thymopoiesis after bone marrow transplantation / Chung B., Barbara-Burnham L., Barsky L., Weinberg K. // *Blood*. – 2001. – T. 98. – №. 5. – C. 1601–1606.
181. Fletcher A.L. Ablation and regeneration of tolerance-inducing medullary thymic epithelial cells after cyclosporine, cyclophosphamide, and dexamethasone treatment / Fletcher A.L., Lowen T.E., Sakkal S., Reiseger J.J., Hammett M.V., Seach N., Scott H.S., Boyd R.L., Chidgey A.P. // *Journal of Immunology*. – 2009. – T. 183. – №. 2. – C. 823–831.
182. Turner B.E. Reduced intensity conditioning for hematopoietic stem cell transplantation: has it achieved all it set out to? / Turner B.E., Collin M., Rice A.M. // *Cytherapy*. – 2010. – T. 12. – №. 4. – C. 440–454.
183. Clave E. Acute graft-versus-host disease transiently impairs thymic output in young patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Clave E., Busson M., Douay C., Peffault de Latour R., Berrou J., Rabian C., Carmagnat M., Rocha V., Charron D., Socié G., Toubert A. // *Blood*. – 2009. – T. 113. – №. 25. – C. 6477–6484.
184. Welniak L.A. Immunobiology of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Welniak L.A., Blazar B.R., Murphy W.J. // *Annual Review of Immunology*. – 2007. – №. 25. – C. 139–70.
185. Krenger W. The immunopathology of thymic GVHD / Krenger W., Holländer G.A. // *Seminars in Immunopathology*. – 2008. – T. 30. – №. 4. – C. 439–456.

186. Hauri-Hohl M.M. Donor T-cell alloreactivity against host thymic epithelium limits T-cell development after bone marrow transplantation / Hauri-Hohl M.M., Keller M.P., Gill J., Hafen K., Pachlatko E., Boulay T., Peter A., Holländer G.A., Krenger W. // *Blood*. – 2007. – T. 109. – №. 9. – C. 4080–4088.
187. Lau C.M. The widening spectrum of immunological memory / Lau C.M., Sun J.C. // *Current Opinion in Immunology*. – 2018. – №. 54. – C. 42–49.
188. Zhang X. Human bone marrow: a reservoir for "enhanced effector memory" CD8⁺ T cells with potent recall function / Zhang X., Dong H., Lin W., Voss S., Hinkley L., Westergren M., Tian G., Berry D., Lewellen D., Vile R.G., Chen L., Farber D.L., Strome S.E. // *Journal of Immunology*. – 2006. – T. 177. – №. 10. – C. 6730–6737.
189. Mazo I.B. Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory CD8⁺ T cells / Mazo I.B., Honczarenko M., Leung H., Cavanagh L.L., Bonasio R., Weninger W., Engelke K., Xia L., McEver R.P., Koni P.A., Silberstein L.E., von Andrian U.H. // *Immunity*. – 2005. – T. 22. – №. 2. – C. 259–270.
190. Feuerer M. Therapy of human tumors in NOD/SCID mice with patient-derived reactivated memory T cells from bone marrow / Feuerer M., Beckhove P., Bai L., Solomayer E.F., Bastert G., Diel I.J., Pedain C., Oberniedermayr M., Schirmacher V., Umansky V. // *Nature Medicine*. – 2001. – T. 7. – №. 4. – C. 452–458.
191. Feuerer M. Enrichment of memory T cells and other profound immunological changes in the bone marrow from untreated breast cancer patients / Feuerer M., Rocha M., Bai L., Umansky V., Solomayer E.F., Bastert G., Diel I.J., Schirmacher V. // *International Journal of Cancer*. – 2001. – T. 92. – №. 1. – C. 96–105.
192. Zeng D. Unique patterns of surface receptors, cytokine secretion, and immune functions distinguish T cells in the bone marrow from those in the periphery: impact on allogeneic bone marrow transplantation / Zeng D., Hoffmann P., Lan F., Huie P., Higgins J., Strober S. // *Blood*. – 2002. – T. 99. – №. 4. – C. 1449–1457.
193. Sallusto F. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions / Sallusto F., Lenig D., Förster R., Lipp M., Lanzavecchia A. // *Nature*. – 1999. – T. 401. – №. 6754. – C. 708–712.
194. Kaech S.M. Selective expression of the interleukin 7 receptor identifies effector CD8 T cells that give rise to long-lived memory cells / Kaech S.M., Tan J.T., Wherry E.J., Konieczny B.T., Surh C.D., Ahmed R. // *Nature Immunology*. – 2003. – T. 4. – №. 12. – C. 1191–1198.

195. Hamann D. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8⁺ T cells / Hamann D., Baars P.A., Rep M.H., Hooibrink B., Kerkhof-Garde S.R., Klein M.R., van Lier R.A. // *Journal of Experimental Medicine*. – 1997. – T. 186. – №. 9. – C. 1407–1418.
196. Sanders M.E. Human naive and memory T cells: reinterpretation of helper-inducer and suppressor-inducer subsets / Sanders M.E., Makgoba M.W., Shaw S. // *Immunology Today*. – 1988. – T. 9. – №. 7–8. – C. 195–199.
197. Akbar A.N. Loss of CD45R and gain of UCHL1 reactivity is a feature of primed T cells / Akbar A.N., Terry L., Timms A., Beverley P.C., Janossy G. // *Journal of Immunology*. – 1988. – T. 140. – №. 7. – C. 2171–2178.
198. Picker L.J. Control of lymphocyte recirculation in man. II. Differential regulation of the cutaneous lymphocyte-associated antigen, a tissue-selective homing receptor for skin-homing T cells / Picker L.J., Treer J.R., Ferguson-Darnell B., Collins P.A., Bergstresser P.R., Terstappen L.W. // *Journal of Immunology*. – 1993. – T. 150. – №. 3. – C. 1122–1136.
199. Sallusto F. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions / Sallusto F., Lenig D., Förster R., Lipp M., Lanzavecchia A. // *Nature*. – 1999. – T. 401. – №. 6754. – C. 708–712.
200. Sallusto F. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance / Sallusto F., Geginat J., Lanzavecchia A. // *Annual Review of Immunology*. – 2004. – №. 22. – C. 745–763.
201. Stemberger C. Stem cell-like plasticity of naïve and distinct memory CD8⁺ T cell subsets / Stemberger C., Neuenhahn M., Gebhardt F.E., Schiemann M., Buchholz V.R., Busch D.H. // *Seminars in Immunology*. – 2009. – T. 21. – №. 2. – C. 62–68.
202. Mueller S.N. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence / Mueller S.N., Gebhardt T., Carbone F.R., Heath W.R. // *Annual Review of Immunology*. – 2013. – №. 31. – C. 137–161.
203. Fagnoni F.F. Shortage of circulating naive CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in aging / Fagnoni F.F., Vescovini R., Passeri G., Bologna G., Pedrazzoni M., Lavagetto G., Casti A., Franceschi C., Passeri M., Sansoni P. // *Blood*. – 2000. – T. 95. – №. 9. – C. 2860–2868.
204. Lugli E. Subject classification obtained by cluster analysis and principal component analysis applied to flow cytometric data / Lugli E., Pinti M., Nasi M., Troiano L., Ferraresi R., Mussi C., Salvioli G., Patsekina V., Robinson J.P., Durante C., Cocchi M., Cossarizza A. // *Cytometry A*. – 2007. – T. 71. – №. 5. – C. 334–344.

205. Gattinoni L. A human memory T cell subset with stem cell-like properties / Gattinoni L., Lugli E., Ji Y., Pos Z., Paulos C.M., Quigley M.F., Almeida J.R., Gostick E., Yu Z., Carpenito C., Wang E., Douek D.C., Price D.A., June C.H., Marincola F.M., Roederer M., Restifo N.P. // *Nature Medicine*. – 2011. – T. 17. – №. 10. – C. 1290–1297.
206. Lugli E. Superior T memory stem cell persistence supports long-lived T cell memory / Lugli E., Dominguez M.H., Gattinoni L., Chattopadhyay P.K., Bolton D.L., Song K., Klatt N.R., Brenchley J.M., Vaccari M., Gostick E., Price D.A., Waldmann T.A., Restifo N.P., Franchini G., Roederer M. // *Journal of Clinical Investigation*. – 2013. – T. 123. – №. 2. – C. 594–599.
207. Mahnke Y.D. OMIP-013: differentiation of human T-cells / Mahnke Y.D., Beddall M.H., Roederer M. // *Cytometry Part A*. – 2012. – T. 81. – №. 11. – C. 935–936.
208. Fritsch R.D. Stepwise differentiation of CD4 memory T cells defined by expression of CCR7 and CD27 / Fritsch R.D., Shen X., Sims G.P., Hathcock K.S., Hodes R.J., Lipsky P.E. // *Journal of Immunology*. – 2005. – T. 175. – №. 10. – C. 6489–6497.
209. Okada R. Phenotypic classification of human CD4⁺ T cell subsets and their differentiation / Okada R., Kondo T., Matsuki F., Takata H., Takiguchi M. // *International Immunology*. – 2008. – T. 20. – №. 9. – C. 1189–1199.
210. Picker L.J. IL-15 induces CD4 effector memory T cell production and tissue emigration in nonhuman primates / Picker L.J., Reed-Inderbitzin E.F., Hagen S.I., Edgar J.B., Hansen S.G., Legasse A., Planer S., Piatak M. Jr., Lifson J.D., Maino V.C., Axthelm M.K., Villinger F. // *Journal of Clinical Investigation*. – 2006. – T. 116. – №. 6. – C. 1514–1524.
211. Geginat J. Proliferation and differentiation potential of human CD8⁺ memory T-cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines / Geginat J., Lanzavecchia A., Sallusto F. // *Blood*. – 2003. – T. 101. – №. 11. – C. 4260–4266.
212. Mahnke Y.D. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets / Mahnke Y.D., Brodie T.M., Sallusto F., Roederer M., Lugli E. // *European Journal of Immunology*. – 2013. – T. 43. – №. 11. – C. 2797–2809.
213. MacLeod M.K. CD4 memory T cells divide poorly in response to antigen because of their cytokine profile / MacLeod M.K., McKee A., Crawford F., White J., Kappler J., Marrack P. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2008. – T. 105. – №. 38. – C. 14521–14526.
214. Weng N.P. Human naive and memory T lymphocytes differ in telomeric length and replicative potential / Weng N.P., Levine B.L., June C.H., Hodes R.J. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1995. – T. 92. – №. 24. – C. 11091–11094.

215. Zhang P. Allospecific CD4(+) effector memory T cells do not induce graft-versus-host disease in mice / Zhang P., Wu J., Deoliveira D., Chao N.J., Chen B.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2012. – T. 18. – №. 10. – C. 1488–1499.
216. Huang W. Memory T cells: A helpful guard for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation without causing graft-versus-host disease / Huang W., Chao N.J. // *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*. – 2017. – T. 10. – №. 4. – C. 211–219.
217. Bayraktar U.D. Ex vivo T cell-depleted versus unmodified allografts in patients with acute myeloid leukemia in first complete remission / Bayraktar U.D., de Lima M., Saliba R.M., Maloy M., Castro-Malaspina H.R., Chen J., Rondon G., Chiattonne A., Jakubowski A.A., Boulad F., Kernan N.A., O'Reilly R.J., Champlin R.E., Giralt S., Andersson B.S., Papadopoulos E.B. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2013. – T. 19. – №. 6. – C. 898–903.
218. Ciceri F. A survey of fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients in remission at transplantation / Ciceri F., Labopin M., Aversa F., Rowe J.M., Bunjes D., Lewalle P., Nagler A., Di Bartolomeo P., Lacerda J.F., Lupo Stanghellini M.T., Polge E., Frassoni F., Martelli M.F., Rocha V.; Acute Leukemia Working Party (ALWP) of European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Group. // *Blood*. – 2008. – T. 112. – №. 9. – C. 3574–3581.
219. Wagner J.E. Unrelated Donor Marrow Transplantation Trial. Effect of graft-versus-host disease prophylaxis on 3-year disease-free survival in recipients of unrelated donor bone marrow (T-cell Depletion Trial): a multi-centre, randomised phase II-III trial / Wagner J.E., Thompson J.S., Carter S.L., Kernan N.A. // *Lancet*. – 2005. – T. 366. – №. 9487. – C. 733–741.
220. Triplett B.M. Rapid memory T-cell reconstitution recapitulating CD45RA-depleted haploidentical transplant graft content in patients with hematologic malignancies / Triplett B.M., Shook D.R., Eldridge P., Li Y., Kang G., Dallas M., Hartford C., Srinivasan A., Chan W.K., Suwannasaen D., Inaba H., Merchant T.E., Pui C.H., Leung W. // *Bone Marrow Transplantation*. – 2015. – T. 50. – №. 7. – C. 968–977.
221. Pardoll D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy / Pardoll D.M. // *Nature Reviews Cancer*. – 2012. – T. 12. – №. 4. – C. 252–264.
222. Armand P. Immune checkpoint blockade in hematologic malignancies / Armand P. // *Blood*. – 2015. – T. 125. – №. 22. – C. 3393–3400.
223. Parry R.V. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms / Parry R.V., Chemnitz J.M., Frauwirth K.A., Lanfranco A.R., Braunstein I., Kobayashi S.V.,

- Linsley P.S., Thompson C.B., Riley J.L. // *Molecular and Cellular Biology*. – 2005. – T. 25. – №. 21. – C. 9543–9553.
224. Ishida Y. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death / Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo T. // *The EMBO Journal*. –1992. – T. 11. – №. 11. – C. 3887–3895.
225. Nishimura H. Developmentally regulated expression of the PD-1 protein on the surface of double-negative (CD4-CD8-) thymocytes / Nishimura H., Agata Y., Kawasaki A., Sato M., Imamura S., Minato N., Yagita H., Nakano T., Honjo T. // *International Immunology*. – 1996. – T. 8. – №. 5. – C. 773–780.
226. Keir M.E. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity / Keir M.E., Butte M.J., Freeman G.J., Sharpe A.H. // *Annual Review of Immunology*. – 2008. – №. 26. – C. 677–704.
227. Francisco L.M. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity / Francisco L.M., Sage P.T., Sharpe A.H. // *Immunological Reviews*. – 2010. – №. 236. – C. 219–242.
228. Kinter A.L. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands / Kinter A.L., Godbout E.J., McNally J.P., Sereti I., Roby G.A., O'Shea M.A., Fauci A.S. // *Journal of Immunology*. – 2008. – T. 181. – №. 10. – C. 6738–6746.
229. Freeman G.J. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation / Freeman G.J., Long A.J., Iwai Y., Bourque K., Chernova T., Nishimura H., Fitz L.J., Malenkovich N., Okazaki T., Byrne M.C., Horton H.F., Fouser L., Carter L., Ling V., Bowman M.R., Carreno B.M., Collins M., Wood C.R., Honjo T. // *Journal of Experimental Medicine*. – 2000. – T. 192. – №. 7. – C. 1027–1034.
230. Latchman Y. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation / Latchman Y., Wood C.R., Chernova T., Chaudhary D., Borde M., Chernova I., Iwai Y., Long A.J., Brown J.A., Nunes R., Greenfield E.A., Bourque K., Boussiotis V.A., Carter L.L., Carreno B.M., Malenkovich N., Nishimura H., Okazaki T., Honjo T., Sharpe A.H., Freeman G.J. // *Nature Immunology*. – 2001. – T. 2. – №. 3. – C. 261–268.
231. Okazaki T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application / Okazaki T., Honjo T. // *International Immunology*. – 2007. – T. 19. – №. 7. – C. 813–824.
232. Nurieva R. T-cell tolerance or function is determined by combinatorial costimulatory signals / Nurieva R., Thomas S., Nguyen T., Martin-Orozco N., Wang Y., Kaja M.K., Yu X.Z., Dong C. // *The EMBO Journal*. – 2006. – T. 25. – №. 11. – C. 2623–2633.

233. Patsoukis N. PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation / Patsoukis N., Bardhan K., Chatterjee P., Sari D., Liu B., Bell L.N., Karoly E.D., Freeman G.J., Petkova V., Seth P., Li L., Boussiotis V.A. // *Nature Communications*. – 2015. – №. 6. – C. 6692.
234. Francisco L.M. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells / Francisco L.M., Salinas V.H., Brown K.E., Vanguri V.K., Freeman G.J., Kuchroo V.K., Sharpe A.H. // *Journal of Experimental Medicine*. – 2009. – T. 206. – №. 13. – C. 3015–3029.
235. Wang J. Establishment of NOD-Pdcd1^{-/-} mice as an efficient animal model of type I diabetes / Wang J., Yoshida T., Nakaki F., Hiai H., Okazaki T., Honjo T. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – T. 102. – №. 33. – C. 11823–11828.
236. Riella L.V. Essential role of PDL1 expression on nonhematopoietic donor cells in acquired tolerance to vascularized cardiac allografts / Riella L.V., Watanabe T., Sage P.T., Yang J., Yeung M., Azzi J., Vanguri V., Chandraker A., Sharpe A.H., Sayegh M.H., Najafian N. // *American Journal of Transplantation*. – 2011. – T. 11. – №. 4. – C. 832–840.
237. Chen D.S. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle / Chen D.S., Mellman I. // *Immunity*. – 2013. – T. 39. – №. 1. – C. 1–10.
238. Spranger S. Up-regulation of PD-L1, IDO, and T(regs) in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8(+) T cells / Spranger S., Spaepen R.M., Zha Y., Williams J., Meng Y., Ha T.T., Gajewski T.F. // *Science Translational Medicine*. – 2013. – T. 5. – №. 200. – C. 200ra116.
239. Atkins M.B. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993 / Atkins M.B., Lotze M.T., Dutcher J.P., Fisher R.I., Weiss G., Margolin K., Abrams J., Sznol M., Parkinson D., Hawkins M., Paradise C., Kunkel L., Rosenberg S.A. // *Journal of Clinical Oncology*. – 1999. – T. 17. – №. 7. – C. 2105–2116.
240. Rosenberg S.A. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy / Rosenberg S.A., Yang J.C., Sherry R.M., Kammula U.S., Hughes M.S., Phan G.Q., Citrin D.E., Restifo N.P., Robbins P.F., Wunderlich J.R., Morton K.E., Laurencot C.M., Steinberg S.M., White D.E., Dudley M.E. // *Clinical Cancer Research*. – 2011. – T. 17. – №. 13. – C. 4550–4557.
241. Gibney G.T. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy / Gibney G.T., Weiner L.M., Atkins M.B. // *The Lancet Oncology*. – 2016. – T. 17. – №. 12. – C. e542–e551.

242. Schadendorf D. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma / Schadendorf D., Hodi F.S., Robert C., Weber J.S., Margolin K., Hamid O., Patt D., Chen T.T., Berman D.M., Wolchok J.D. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2015. – T. 33. – №. 17. – C. 1889–1894.
243. Borghaei H. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer / Borghaei H., Paz-Ares L., Horn L., Spigel D.R., Steins M., Ready N.E., Chow L.Q., Vokes E.E., Felip E., Holgado E., Barlesi F., Kohlhäufel M., Arrieta O., Burgio M.A., Fayette J., Lena H., Poddubskaya E., Gerber D.E., Gettinger S.N., Rudin C.M., Rizvi N., Crinò L., Blumenschein G.R. Jr., Antonia S.J., Dorange C., Harbison C.T., Graf Finckenstein F., Brahmer J.R. // *The New England Journal of Medicine*. – 2015. – T. 373. – №. 17. – C. 1627–1639.
244. Robert C. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation / Robert C., Long G.V., Brady B., Dutriaux C., Maio M., Mortier L., Hassel J.C., Rutkowski P., McNeil C., Kalinka-Warzocha E., Savage K.J., Hernberg M.M., Lebbé C., Charles J., Mihalciou C., Chiarion-Sileni V., Mauch C., Cognetti F., Arance A., Schmidt H., Schadendorf D., Gogas H., Lundgren-Eriksson L., Horak C., Sharkey B., Waxman I.M., Atkinson V., Ascierto P.A. // *The New England Journal of Medicine*. – 2015. – T. 372. – №. 4. – C. 320–330.
245. Motzer R.J. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma / Motzer R.J., Escudier B., McDermott D.F., George S., Hammers H.J., Srinivas S., Tykodi S.S., Sosman J.A., Procopio G., Plimack E.R., Castellano D., Choueiri T.K., Gurney H., Donskov F., Bono P., Wagstaff J., Gaurer T.C., Ueda T., Tomita Y., Schutz F.A., Kollmannsberger C., Larkin J., Ravaud A., Simon J.S., Xu L.A., Waxman I.M., Sharma P. // *The New England Journal of Medicine*. – 2015. – T. 373. – №. 19. – C. 1803–1813.
246. Homet Moreno B. Anti-programmed cell death protein-1/ligand-1 therapy in different cancers / Homet Moreno B., Ribas A. // *British Journal of Cancer*. – 2015. – T. 112. – №. 9. – C. 1421–1427.
247. Kong Y. PD-1(hi)TIM-3(+) T cells associate with and predict leukemia relapse in AML patients post allogeneic stem cell transplantation / Kong Y., Zhang J., Claxton D.F., Ehmman W.C., Rybka W.B., Zhu L., Zeng H., Schell T.D., Zheng H. // *Blood Cancer Journal*. – 2015. – №. 5. – C. e330.
248. Zhou Q. Coexpression of Tim-3 and PD-1 identifies a CD8⁺ T-cell exhaustion phenotype in mice with disseminated acute myelogenous leukemia / Zhou Q., Munger M.E., Veenstra R.G., Weigel B.J., Hirashima M., Munn D.H., Murphy W.J., Azuma M., Anderson A.C., Kuchroo V.K., Blazar B.R. // *Blood*. – 2011. – T. 117. – №. 17. – C. 4501–4510.

249. Sehgal A. Programmed death-1 checkpoint blockade in acute myeloid leukemia / Sehgal A., Whiteside T.L., Boyiadzis M. // *Expert Opinion on Biological Therapy*. – 2015. – T. 15. – №. 8. – C. 1191–1203.
250. Rusak M. Prognostic significance of PD-1 expression on peripheral blood CD4+ T cells in patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia / Rusak M., Eljaszewicz A., Bołkun Ł., Łuksza E., Łapuć I., Piszcz J., Singh P., Dąbrowska M., Bodzenta-Łukaszyk A., Kłoczko J., Moniuszko M. // *Polish Archives of Internal Medicine*. – 2015. – T. 125. – №. 7–8. – C. 553–559.
251. Yang H. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents / Yang H., Bueso-Ramos C., DiNardo C., Estecio M.R., Davanlou M., Geng Q.R., Fang Z., Nguyen M., Pierce S., Wei Y., Parmar S., Cortes J., Kantarjian H., Garcia-Manero G. // *Leukemia*. – 2014. – T. 28. – №. 6. – C. 1280–1288.
252. Schade H. Programmed Death 1 Expression on CD4+ T Cells Predicts Mortality after Allogeneic Stem Cell Transplantation / Schade H., Sen S., Neff C.P., Freed B.M., Gao D., Gutman J.A., Palmer B.E. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – T. 22. – №. 12. – C. 2172–2179.
253. Hutten T.J.A. Increased Coexpression of PD-1, TIGIT, and KLRG-1 on Tumor-Reactive CD8+ T Cells During Relapse after Allogeneic Stem Cell Transplantation / Hutten T.J.A., Norde W.J., Woestenenk R., Wang R.C., Maas F., Kester M., Falkenburg J.H.F., Berglund S., Luznik L., Jansen J.H., Schaap N., Dolstra H., Hobo W. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2018. – T. 24. – №. 4. – C. 666–677.
254. Drovkov M., Preanalytical phase in flow cytometric evaluation of bone marrow / Drovkov M., Popova N., Davydova Y., Dvirnyk V., Kuchmiy A., Vdovin A., Kuzmina L., Dubnyak D., Galtseva I., Kapranov N., Vasilyeva V., Koroleva O., Mikhalcova E., Konova Z., Efimov G., Parovichnikova E., Savchenko V. // *Cytometry at the crossroads of cultures. ESCCA 2017 Abstract book*. – 2017. – C. 112.
255. Beilhack A. In vivo analyses of early events in acute graft-versus-host disease reveal sequential infiltration of T-cell subsets / Beilhack A., Schulz S., Baker J., Beilhack G.F., Wieland C.B., Herman E.I., Baker E.M., Cao Y.A., Contag C.H., Negrin R.S. // *Blood*. – 2005. – T. 106. – №. 3. – C. 1113–1122.
256. Wysocki C.A. Leukocyte migration and graft-versus-host disease / Wysocki C.A., Panoskaltsis-Mortari A., Blazar B.R., Serody J.S. // *Blood*. – 2005. – T. 105. – №. 11. – C. 4191–4199.

257. Huang W. Donor Allospecific CD44^{high} Central Memory T Cells Have Decreased Ability to Mediate Graft-vs.-Host Disease / Huang W., Mo W., Jiang J., Chao N.J., Chen B.J. // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – №. 10. – C. 624.
258. Wherry E.J. Lineage relationship and protective immunity of memory CD8 T cell subsets / Wherry E.J., Teichgräber V., Becker T.C., Masopust D., Kaech S.M., Antia R., von Andrian U.H., Ahmed R. // *Nature Immunology*. – 2003. – T. 4. – №. 3. – C. 225–234.
259. Graef P. Serial transfer of single-cell-derived immunocompetence reveals stemness of CD8(+) central memory T cells / Graef P., Buchholz V.R., Stemberger C., Flossdorf M., Henkel L., Schiemann M., Drexler I., Höfer T., Riddell S.R., Busch D.H. // *Immunity*. – 2014. – T. 41. – №. 1. – C. 116–126.
260. Gattinoni L. Memory T cells officially join the stem cell club / Gattinoni L. // *Immunity*. – 2014. – T. 41. – №. 1. – C. 7–9.
261. Cieri N. Generation of human memory stem T cells after haploidentical T-replete hematopoietic stem cell transplantation / Cieri N., Oliveira G., Greco R., Forcato M., Taccioli C., Cianciotti B., Valtolina V., Noviello M., Vago L., Bondanza A., Lunghi F., Markt S., Bellio L., Bordignon C., Biciato S., Peccatori J., Cicero F., Bonini C. // *Blood*. – 2015. – T. 125. – №. 18. – C. 2865–2874.
262. Saule P. Accumulation of memory T cells from childhood to old age: central and effector memory cells in CD4(+) versus effector memory and terminally differentiated memory cells in CD8(+) compartment / Saule P., Trauet J., Dutriez V., Lekeux V., Dessaint J.P., Labalette M. // *Mechanisms of Ageing and Development*. – 2006. – T. 127. – №. 3. – C. 274–81.
263. Kasakovski D. T cell senescence and CAR-T cell exhaustion in hematological malignancies / Kasakovski D., Xu L., Li Y. // *Journal of Hematology & Oncology*. – 2018. – №. 11. – C. 91.
264. Cartwright E.K. Initiation of Antiretroviral Therapy Restores CD4+ T Memory Stem Cell Homeostasis in Simian Immunodeficiency Virus-Infected Macaques / Cartwright E.K., Palesch D., Mavigner M., Paiardini M., Chahroudi A., Silvestri G. // *Journal of Virology*. – 2016. – T. 90. – №. 15. – C. 6699–6708.
265. Xu L. Memory T cells skew toward terminal differentiation in the CD8+ T cell population in patients with acute myeloid leukemia / Xu L., Yao D., Tan J., He Z., Yu Z., Chen J., Luo G., Wang C., Zhou F., Zha X., Chen S., Li Y. // *Journal of Hematology & Oncology*. – 2018. – №. 11. – C. 93.
266. Blaesckhe F. Induction of a central memory and stem cell memory phenotype in functionally active CD4+ and CD8+ CAR T cells produced in an automated good manufacturing practice system for the treatment of CD19+ acute lymphoblastic leukemia / Blaesckhe F., Stenger D.,

- Kaeuferle T., Willier S., Lotfi R., Kaiser A.D., Assenmacher M., Döring M., Feucht J., Feuchtinger T. // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2018. – T. 67. – №. 7. – C. 1053–1066.
267. Liao D. A Review of Efficacy and Safety of Checkpoint Inhibitor for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia / Liao D., Wang M., Liao Y., Li J., Niu T. // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – №. 10. – C. 609.
268. Wherry E.J. Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection / Wherry E.J., Ha S.J., Kaech S.M., Haining W.N., Sarkar S., Kalia V., Subramaniam S., Blattman J.N., Barber D.L., Ahmed R. // *Immunity*. – 2007. – T. 27. – №. 4. – C. 670–684.
269. Kroy D.C. Liver environment and HCV replication affect human T-cell phenotype and expression of inhibitory receptors / Kroy D.C., Ciuffreda D., Cooperrider J.H., Tomlinson M., Hauck G.D., Aneja J., Berger C., Wolski D., Carrington M., Wherry E.J., Chung R.T., Tanabe K.K., Elias N., Freeman G.J., de Kruffyff R.H., Misdraji J., Kim A.Y., Lauer G.M. // *Gastroenterology*. – 2014. – T. 146. – №. 2. – C. 550–561.
270. Barber D.L. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection / Barber D.L., Wherry E.J., Masopust D., Zhu B., Allison J.P., Sharpe A.H., Freeman G.J., Ahmed R. // *Nature*. – 2006. – T. 439. – №. 7077. – C. 682–687.
271. Wherry E.J. T cell exhaustion / Wherry E.J. // *Nature Immunology*. – 2011. – T. 12. – №. 6. – C. 492–499.
272. Gupta P.K. CD39 Expression Identifies Terminally Exhausted CD8+ T Cells / Gupta P.K., Godec J., Wolski D., Adland E., Yates K., Pauken K.E., Cosgrove C., Ledderose C., Junger W.G., Robson S.C., Wherry E.J., Alter G., Goulder P.J.R., Klenerman P., Sharpe A.H., Lauer G.M., Haining W.N. // *PLOS Pathogens*. – 2015. – T. 11. – №. 10. – C. e1005177.
273. Duraiswamy J. Phenotype, function, and gene expression profiles of programmed death-1(hi) CD8 T cells in healthy human adults / Duraiswamy J., Ibegbu C.C., Masopust D., Miller J.D., Araki K., Doho G.H., Tata P., Gupta S., Zilliox M.J., Nakaya H.I., Pulendran B., Haining W.N., Freeman G.J., Ahmed R.J. // *Journal of Immunology*. – 2011. – T. 186. – №. 7. – C. 4200–4212.
274. Becker T.C. Bone marrow is a preferred site for homeostatic proliferation of memory CD8 T cells / Becker T.C., Coley S.M., Wherry E.J., Ahmed R. // *Journal of Immunology*. – 2005. – T. 174. – №. 3. – C. 1269–1273.
275. Parretta E. CD8 cell division maintaining cytotoxic memory occurs predominantly in the bone marrow / Parretta E., Cassese G., Barba P., Santoni A., Guardiola J., Di Rosa F. // *Journal of Immunology*. – 2005. – T. 174. – №. 12. – C. 7654–7664.

276. Kernan N.A. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. Identification of host-derived antidonor alloreactive T lymphocytes / Kernan N.A., Flomenberg N., Dupont B., O'Reilly R.J. // *Transplantation*. – 1987. – T. 43. – C. 842–847.
277. Baumeister S.H.C. Key Aspects of the Immunobiology of Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation / Baumeister S.H.C., Rambaldi B., Shapiro R.M., Romee R. // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – T. 11. – C. 191.

Приложение

Приложение 1. Схемы предтрансплантационного кондиционирования, которые применялись у пациентов в данном исследовании.

1А. Классический миелоаблативный режим ВuСy

Препарат	-7 день	-6 день	-5 день	-4 день	-3 день	-2 день	-1 день	0 день
Бусульфан 4 мг/кг/сут		X	X	X				
Циклофосфамид 60 мг/кг/сут					X	X		

1Б. Классический режим пониженной интенсивности FluBu

Препарат	-10 день	-9 день	-8 день	-7 день	-6 день	-5 день	-4 день	-3 день	-2 день	-1 день	0 день
Флюдарабин 30 мг/м ² /сут	X	X	X	X	X	X					
Бусульфан 4 мг/кг/сут					X	X					

1В. Миелоаблативный режим предтрансплантационного кондиционирования TreoThioteraFlu при гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплецией

Препарат	-7 день	-6 день	-5 день	-4 день	-3 день	-2 день	-1 день	0 день
Треосульфан 14 г/м ² /сут			X	X	X			
Тиотепа 5 мг/кг/сут		X	X					
Флюдарабин 30 мг/м ² /сут		X	X	X	X	X		

1Г. Режим пониженной интенсивности TreoMelFlu при гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ /CD19-деплецией

Препарат	-7 день	-6 день	-5 день	-4 день	-3 день	-2 день	-1 день	0 день
Треосульфан 14 г/м ² /сут			X	X	X			
Мелфалан 70 мг/м ² /сут					X	X		
Флюдарабин 30 мг/м ² /сут		X	X	X	X	X		

Приложение 2. Схемы профилактики острой РТПХ у больных, включенных в исследование.

2А. Классический режим профилактики острой РТПХ у пациентов после алло-ТГСК от родственного или неродственного HLA-идентичного донора

Препарат	- 5 день	- 4 день	- 3 день	- 2 день	- 1 день	0 день	+ 1 день	+ 2 день	+ 3 день	+ 4 день	+ 5 день	+ 6 день	...	+11 день	...
АТГ 10 мг/кг/сут		X	X	X	X										
CsA 3мг/кг/сут					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ММФ 2г/сут (родственный донор) 3г/сут (неродственный донор)							X	X	X	X	X	X	X	X	X
MTX 15 мг/м ² /сут							X								
MTX 10 мг/м ² /сут									X			X		X	

