

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Дмитрова Анна Александровна

**«Цитомегаловирусная инфекция и факторы, влияющие на ЦМВ-
специфичный Т-клеточный иммунитет у больных после трансплантации
аллогенных гемопоэтических стволовых клеток»**

3.1.28 – Гематология и переливание крови

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук Туполева Татьяна Алексеевна,
кандидат медицинских наук Дроков Михаил Юрьевич

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	8
Актуальность темы исследования.....	8
Цель исследования.....	9
Задачи исследования.....	9
Научная новизна и практическая значимость.....	10
Методология и методы исследования.....	10
Положения, выносимые на защиту.....	11
Степени достоверности и апробация результатов.....	12
Глава 1. Обзор литературы.....	14
1.1. Цитомегаловирусная инфекция как осложнение после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	14
1.1.1 Цитомегаловирус.....	16
1.1.2 Эпидемиология и пути передачи цитомегаловируса.....	17
1.1.3 Фазы первичной цитомегаловирусной инфекции.....	18
1.2 Реконституция адаптивного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	20
1.2.1 Реконституция Т-клеточного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	21
1.2.2 Реконституция В-клеточного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	23
1.2.3 Реконституция ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	25

1.3 Факторы, влияющие на реконституцию иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в раннем посттрансплантационном периоде	25
1.3.1 Режим предтрансплантационного кондиционирования и его влияние на реконституцию иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	26
1.3.2. Влияние источника трансплантата на реконституцию иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	27
1.3.3 Влияние режимов профилактики реакции «трансплантат против хозяина» на реконституцию иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	28
1.3.4. Терапия реакции «трансплантат против хозяина» и ее влияние на реконституцию иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	31
1.4 Влияние цитомегаловирусной инфекции на исходы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	33
1.4.1 Влияние цитомегаловирусной инфекции на развитие реакции «трансплантат против хозяина»	33
1.4.2 Влияние цитомегаловирусной инфекции на развитие рецидива после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	34
1.4.3 Цитомегаловирусная инфекция и несостоятельность трансплантата.....	35
1.5 Факторы риска развития цитомегаловирусной инфекции у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	37
1.5.1. Серологический статус донора и реципиента.....	38
1.5.2. Тип донора и риск развития цитомегаловирусной инфекции.....	40

1.5.3 Влияние режима предтрансплантационного кондиционирования на развитие цитомегаловирусной инфекции.....	41
1.5.4 Режим профилактики реакции «трансплантат против хозяина» как фактор риска развития цитомегаловирусной инфекции.....	42
1.5.5. Влияние развития реакции «трансплантат против хозяина» на развитие цитомегаловирусной инфекции.....	43
1.6 Методы оценки цитомегаловирус-специфичного Т-клеточного иммунитета	44
1.6.1 Диагностические тесты для оценки цитомегаловирус-специфичных Т-клеток	44
1.6.2 Оценка цитомегаловирус-специфичных Т-клеток методом внутриклеточного окрашивания цитокинами	45
1.6.3 Окрашивание посредством тетрамера пептид-МНС для определения цитомегаловирус-специфичных Т-клеток.....	45
1.7 Методы профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции	47
1.7.1 Профилактика цитомегаловирусной инфекции.....	47
1.7.2 Превентивная терапия цитомегаловирусной инфекции	48
1.7.3 Адоптивная иммунотерапия	49
Глава 2. Материалы и методы.....	51
2.1 Дизайн исследования.....	51
2.2 Характеристика пациентов	52
2.3 Серологический статус донора и реципиента.....	53
2.4 Предтрансплантационное кондиционирование	54
2.5 Источник гемопоэтических стволовых клеток	55
2.6 Вид трансплантации в зависимости от типа донора	56
2.7 Профилактика реакции «трансплантат против хозяина»	57

2.8 Определение цитомегаловирусной инфекции и цитомегаловирусной болезни	59
2.9 Объем исследования	60
2.10 Лабораторная пробоподготовка и цитометрический анализ.....	60
2.10.1 Взятие материала у донора и пациента	60
2.10.2 Лабораторная пробоподготовка	61
2.10.2.1 Лизирование эритроцитов.....	61
2.10.2.2 Подсчет клеточности образцов.....	61
2.10.2.3 Инкубация образцов с дзатинибом	62
2.10.2.4 Сборка тетрамера	62
2.10.2.5 Инкубация с тетрамером.....	65
2.10.2.6 Окрашивание поверхностных маркеров.....	65
2.10.3 Цитометрический анализ. Многоцветная проточная цитометрия.....	67
2.10.4 Количественная оценка цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов	68
2.11 Статистический анализ.....	69
Глава 3. Результаты исследования	70
3.1 Клинические результаты исследования.....	70
3.2 Общая частота развития цитомегаловирусной инфекции и цитомегаловирусной болезни	70
3.3 Влияние варианта молекулы HLA-A*02, HLA-B*07 на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	73
3.4 Влияние диагноза основного заболевания на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.....	75

3.5 Влияние пола на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	76
3.6 Влияние серологического статуса пары донор-реципиент на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов и на частоту возникновения цитомегаловирусной инфекции после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	79
3.7 Режим предтрансплантационного кондиционирования и его влияние на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	84
3.8 Влияние источника трансплантата на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	86
3.9 Вид трансплантации и реконституция цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	89
3.10 Режим профилактики реакции «трансплантат против хозяина» и его влияние на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	92
3.11 Идентификация пациентов из группы высокого риска по развитию цитомегаловирусной инфекции	96
3.12 Влияние реакции «трансплантат против хозяина» на реконституцию цитомегаловирус-специфичного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	97
3.13 Влияние трансфузии цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов донора на реконституцию цитомегаловирус-специфичного Т-клеточного иммунитета и развитие цитомегаловирусной инфекции после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	99

Глава 4. Обсуждение.....	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	115
ВЫВОДЫ	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	121
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	126

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является эффективным методом терапии гемобластозов и неопухолевых заболеваний системы крови [2, 7]. Однако, сама процедура трансплантации сопряжена с рядом нежелательных явлений и осложнений [5–7, 220]. Одним из частых и тяжелых осложнений у реципиентов алло-ТГСК на ранних сроках является цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ-инфекция) [8, 139, 220, 232].

У больных после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток ЦМВ-инфекция, как правило, носит системный характер. Реактивация ЦМВ-инфекции после алло-ТГСК происходит у 60–70% ЦМВ-серопозитивных пациентов, а без назначения профилактической или превентивной терапии у 20–30% из них развивается такое жизнеугрожающее состояние, как ЦМВ-болезнь с поражением органов-мишеней [9, 35, 141, 142, 151, 232]. Цитомегаловирус может определяться не только в биологических жидкостях, но и в тканях органов, что клинически сопровождается развитием ЦМВ-ассоциированного гепатита, ретинита, энтероколита, энцефалита, пневмонии и др. [9, 31, 82, 140]. ЦМВ-инфекция диагностируется на основании выделения вируса или обнаружении вирусного антигена / нуклеиновых кислот в любой биологической жидкости и / или ткани организма. В настоящее время мониторинг вирусной инфекции проводится с помощью высокочувствительной и высокоспецифичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) [232]. В норме иммунологический контроль над ЦМВ осуществляется ЦМВ-специфичными цитотоксическими Т-лимфоцитами [181, 210]. Применение современной противовирусной терапии ограничено значительным спектром нежелательных явлений, ростом резистентности к противовирусным препаратам, а также высокой стоимостью терапии [4, 52, 92]. В связи с этим рассматривается вопрос поиска альтернативного варианта

противовирусной профилактики и терапии, в том числе и трансфузии вирус-специфичных Т-клеток [65, 193].

Цель исследования

Изучить вероятность развития ЦМВ-инфекции и факторы, влияющие на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Задачи исследования

1. Оценить частоту встречаемости ЦМВ-инфекции у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от различных трансплантационных факторов.
2. Определить количество ЦМВ-специфичных Т-клеток в периферической крови у пациентов на +30, +90, +180 день после алло-ТГСК и проанализировать влияние на их реконституцию и вероятность развития ЦМВ-инфекции факторов: варианта молекулы HLA, серологического статуса пары донор / реципиент, пола.
3. Выявить взаимосвязь между режимами кондиционирования, источником гемопоэтических стволовых клеток, режимами профилактики реакции «трансплантат против хозяина» и реконституцией ЦМВ-специфичных Т-клеток периферической крови у пациентов в контрольные сроки после алло-ТГСК.
4. Определить группы пациентов высокого риска развития ЦМВ-инфекции после алло-ТГСК на основании полученных иммунологических и клинических данных.

5. Оценить влияние трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета пациентов после алло-ТГСК.

Научная новизна и практическая значимость

Впервые изучена реконституция ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета на ранних сроках +30, +90, +180 день после алло-ТГСК и показано, что наибольшее влияние на реконституцию ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов оказывают пол реципиента, ЦМВ-серопозитивность пары донор / реципиент и режим профилактики РТПХ.

В ходе исследования определены наиболее иммунокомпрометированные группы больных, к которым относятся пациенты, получавшие посттрансплантационный циклофосфамид и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию в качестве режима профилактики реакции «трансплантат против хозяина», а к группам высокого риска развития посттрансплантационной ЦМВ-инфекции относятся ЦМВ-серопозитивные реципиенты женского пола, получившие трансплантацию от донора женского пола с генотипом HLA-A*02 / В*07.

Трансфузия ЦМВ-специфичных донорских Т-лимфоцитов показала свою эффективность для пациентов с «высокоагрессивными» режимами профилактики РТПХ.

Методология и методы исследования

По теме исследования были собраны и проанализированы отечественные и зарубежные публикации и исследования, посвященные изучению ЦМВ-инфекции и реконституции ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета после алло-

ТГСК. Перед началом исследования была создана электронная база данных для сбора информации о включенных больных.

При выполнении работы применяли иммунофенотипические, молекулярные, серологические методы исследования. Анализ полученных данных был осуществлен с использованием статистических методов обработки результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Наиболее значимыми факторами, влияющими на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета, являются применение режимов профилактики РТПХ, включающих ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, а также ЦМВ-серопозитивность пары донор / реципиент. Несмотря на это вероятность развития ЦМВ-инфекции в различных группах профилактики РТПХ не отличается. Таким образом, протективный эффект против ЦМВ-инфекции, вероятно, имеет механизм, связанный не только с абсолютным числом ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов.

2. К группе с наиболее высоким риском ЦМВ-инфекции относятся серопозитивные (HR–5,9) реципиенты женского пола, получившие трансплантацию от донора женского пола (HR–2,49) с генотипом HLA-A*02 / B*07 (HR–2,54).

3. Выполнение трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов показало свое влияние на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и оправдано на ранних сроках после нее.

Степени достоверности и апробация результатов

Основные положения Диссертации представлены в виде устных и постерных докладов, тезисов на конференциях, симпозиумах и конгрессах:

1. V конгресс гематологов России, апрель 2020г. (г. Москва, Россия);
2. XII Международный симпозиум памяти Р. М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия», 20–22 сентября 2018г. (г. Санкт-Петербург, Россия);
3. XIV Международный симпозиум памяти Р. М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия», 16–19 сентября 2020г. (г. Санкт-Петербург, Россия);
4. XV Международный симпозиум памяти Р. М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Генная и клеточная терапия», 16–18 сентября 2021г. (г. Санкт-Петербург, Россия);
5. VI Конгресс гематологов России и III Конгресс трансфузиологов России, 21–23 апреля 2022г. (г. Москва, Россия);
6. 24th Congress of European Hematology Association, 13–16 июня 2019г. (г. Амстердам, Нидерланды);
7. 27th Congress of European Hematology Association, EHA 2022 Hybrid Congress, 15–17 июня 2022г. (г. Вена, Австрия);
8. 6th World Congress and Expo on Cell and Stem Cell Research, 14–15 марта 2022г. (г. Лондон, Великобритания).

По теме Диссертации опубликована 21 работа, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 19 тезисных сообщений, в том числе 9 – в англоязычных сборниках конференций.

Апробация работы состоялась 12.09.2022 на заседании проблемной комиссии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Фундаментальные и

клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» (протокол №14).

Объем и структура работы

Диссертационная работа включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы». Текст Диссертации изложен на 166 страницах, содержит 28 рисунков и 13 таблиц. Список литературы включает 261 источник.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Цитомегаловирусная инфекция как осложнение после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

В настоящее время вирусные инфекции являются одними из наиболее часто встречаемых осложнений у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [1, 220]. По данным Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России) 55,7% пациентов после алло-ТГСК нуждаются в повторной госпитализации в стационар по причине развития инфекционного эпизода [5]. Отдельное место занимает ЦМВ-инфекция, которая является одной из лидирующих причин осложнений и смертности после алло-ТГСК, особенно в первые 100 дней после трансплантации [5, 7, 8, 61, 139, 220, 232].

Цитомегаловирус (ЦМВ) особенно опасен для иммунокомпрометированных больных [4, 38, 106]. В группу риска развития ЦМВ-инфекции входят внутриутробно инфицированные дети, для которых частота выявления врожденной первичной ЦМВ-инфекции по данным S. Dollard и соавт. составляет 13%, а летальность 0,5% [62]. В качестве оппортунистической инфекции у пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), ЦМВ-инфекцию по данным R. Mondaca и соавт. наблюдали в 42,9% случаев [166]. Для этой когорты пациентов наиболее часто отмечают развитие ЦМВ-болезни с поражением органов-мишеней [112], где ЦМВ-ретиниты занимают лидирующие позиции и выявляются в 85% случаев [90]. ЦМВ-инфекция является жизнеугрожающим состоянием и для пациентов после трансплантации солидных органов. Высокая частота встречаемости ЦМВ-инфекции в этой группе пациентов также связана с

длительным приемом иммуносупрессивной терапии [188]. У пациентов после трансплантации солидных органов по данным К. Deгау и соавт. частота выявления ЦМВ-инфекции составила 23%, а ЦМВ-болезни 5% [238]. В публикации А. Albeкаiry и соавт. ЦМВ-инфекцию у пациентов после трансплантации почки отмечали в 52,1 % случаев [15].

Отдельный интерес занимает ЦМВ-инфекция у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Наиболее часто ЦМВ-инфекция развивается в период приема иммуносупрессивной терапии [114]. Так, в работе S.-J. Wu и соавт. частота развития ЦМВ-инфекции в течение первых 100 дней после алло-ТГСК составила 48,7% [251]. В работе Н. Sousa и соавт. ЦМВ-инфекцию развилаь у 60,3% пациентов, где доля первичной ЦМВ-инфекции составила всего 3,8%, а подавляющее число случаев связано с ЦМВ-реактивацией преимущественно в первые 100 дней после трансплантации, когда иммуносупрессивная терапия проводится в более высоких дозах [220].

Спектр клинических проявлений ЦМВ-инфекции довольно широк: от бессимптомного течения, когда вирус может быть обнаружен только молекулярными или иными методами диагностики в любой биологической жидкости организма, до развития ЦМВ-болезни, при которой может поражаться кишечник, печень, легкие, центральная нервная система и другие органы [9, 31, 82, 140]. Развитие ЦМВ-болезни по разным данным наблюдают в 3–40% случаев [19, 36, 46, 97, 130]. Помимо поражения органов и тканей реципиента, ЦМВ может оказывать прямое влияние на трансплантат, а именно приводить к его несостоятельности, а также к длительной цитопении в посттрансплантационном периоде [53]. Несмотря на широкое внедрение новых диагностических тестов, современных подходов к профилактике и терапии ЦМВ-инфекции [37, 50, 98, 157], летальность, связанная с ЦМВ-инфекцией, среди реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) по-прежнему высока и по разным данным составляет 45–60% [34, 53].

1.1.1 Цитомегаловирус

Цитомегаловирус (вирус герпеса человека 5 типа, *Human betaherpesvirus 5*) – это представитель рода вирусов *Cytomegalovirus*, подсемейства *Betaherpesvirinae* семейства *Herpesviridae*, которое включает вирусы герпеса человека 6 и 7 типа, а также герпесвирусы животных [72]. Его геном представлен двухцепочечной ДНК, кодирующей не менее 200 белков, и является одним из самых длинных геномов среди известных вирусов человека. Вирион ЦМВ состоит из ДНК, заключенной в икосаэдрический капсид, окруженный матриксом (тегументом). Зрелые вирионы имеют диаметр от 200 до 300 нм.

Геном ЦМВ состоит из уникального длинного (UL) и уникального короткого (US) сегментов, каждый из которых ограничен инвертированными повторами (RL и RS, соответственно). Центральная часть UL-области содержит кластеры ядерных генов, которые имеют гомологии в других герпесвирусах, например, ДНК-полимераза, гликопротеин В, гликопротеин Н, тогда как остальная часть генома содержит гены, обнаруженные в основном только у β -герпесвирусов [161]. Гены ЦМВ называют по их положению в геноме, но некоторые также имеют дополнительные названия согласно выполняемой функции.

Липидная двуслойная оболочка, окружающая тегумент, состоит из как минимум 20 вирус-кодируемых гликопротеинов, которые участвуют в пенетрации в клетку, например, гликопротеины В (gB), gH, gL, gM, gN, gO.

Тегумент содержит подавляющее число вирусных белков, таких как фосфопротеин 65 (pp65), кодируемый геном UL83, вирусный трансаактиватор белок pp71 (продукт гена UL82), pp150 (продукт гена UL32), pp28 (UL99) и другие. Функции белков тегумента включают сборку и распад вириона после проникновения в клетку, а также модулируют иммунный ответ клеток хозяина на инфекцию.

Активная инфекция сопровождается координированным синтезом белков, которые могут обнаруживаться параллельно в трех фазах инфекции:

непосредственно ранняя фаза (immediate-early (IE)), которая возникает в первые 2 часа после инфицирования, отложенная ранняя фаза (delayed-early), протекающая до 24 часов, и поздняя фаза (late), начинающаяся спустя 24 часа после инфицирования.

Вирус также кодирует ряд белков, которые через взаимодействие с человеческими лейкоцитарными антигенами (HLA) классов I и II, ингибируют активность натуральных киллеров (NK-клеток), воздействуют на клеточный цикл, ингибируют пути апоптоза и модулируют пути воспаления, включая путь матриксной металлопротеиназы и молекул клеточной адгезии [73].

К настоящему времени имеется информация о множестве штаммов ЦМВ, среди последних: Davis, AD169, Kerr, C-87, Esp, Towne [242, 246].

1.1.2 Эпидемиология и пути передачи цитомегаловируса

Распространенность ЦМВ среди иммунокомпетентных взрослых составляет от 40% до 99% и имеет широкую межнациональную вариабельность [16, 211, 239, 260]. В крупном исследовании Т. Adane и соавт. 2021 года, основанном на анализе 1420 публикаций, показано, что в мире ЦМВ-серопозитивность составляет 83,16% [13]. Детальнее исследователи выделили инфицированность на разных континентах, где ЦМВ-серопозитивность среди жителей Африки, Азии, Южной Америки составила 82,64%, 82,75%, 99,23%, соответственно [13]. Отмечена высокая частота выявления IgM к ЦМВ (anti-CMV-IgM) среди здоровых доноров, что говорит в пользу частой детекции активной ЦМВ-инфекции среди популяции (первичной или рецидивирующей) [195].

Также обнаружена взаимосвязь с низким социально-экономическим статусом населения и высокой инфицированностью цитомегаловирусом, что обусловлено большей скученностью групп людей, особенностями быта, воспитания детей, сексуального поведения. С другой стороны, реже антитела

класса IgG к цитомегаловирусу (anti-CMV-IgG) отмечали среди здоровых доноров населения Ирака 31,3% [172], Нигерии 4,82% [236], что вероятно обусловлено небольшой выборкой пациентов, национальными и культурными особенностями регионов, не отражающими истинную долю инфицированных.

Первичный контакт с вирусом происходит, как правило, контактно-бытовым или воздушно-капельным путем в детском возрасте [221]. У детей, рожденных от матерей, у которых во время беременности отмечалось первичное инфицирование или реактивация ЦМВ, существует высокий риск вертикального инфицирования и развития врожденной ЦМВ-инфекции. Кроме того, вирус может передаваться при грудном вскармливании и вызывать постнатальную первичную ЦМВ-инфекцию [120], поскольку, по мнению разных авторов, выделение ЦМВ с грудным молоком происходит у 40–99% кормящих инфицированных женщин [20, 39, 60, 255]. ЦМВ также передается с трансфузиями компонентов крови, с трансплантатами солидных органов и ГСК, вызывая первичную инфекцию у ЦМВ-серонегативного реципиента или повторную инфекцию у ЦМВ-серопозитивного реципиента [21, 36, 99, 244]. В отдельных публикациях отмечено, что инфицированность ЦМВ более распространена среди женщин [58].

У пожилых людей также имеется риск развития ЦМВ-инфекции, что напрямую связано со «старением» иммунной системы [185]. Нарушение соотношения CD4⁺ / CD8⁺ клеток, уменьшение пула наивных Т-клеток, увеличение количества терминально дифференцированных Т-клеток и олигоклональное увеличение вирус-специфических Т-клеток являются отличительными признаками «иммунного старения» [43, 86, 217].

1.1.3 Фазы первичной цитомегаловирусной инфекции

В развитии первичной ЦМВ-инфекции выделяют три отдельные фазы:

- I) Фаза системной репликации (врожденный иммунный ответ на первичную инфекцию ЦМВ);
- II) Персистирующая фаза;
- III) Латентный период.

При первичной ЦМВ-инфекции активируется система врожденного иммунитета, которая вызывает высвобождение воспалительных цитокинов и ко-стимулирующих молекул из моноцитов, макрофагов и дендритных клеток. Это способствует замедлению репликации ЦМВ до момента включения в инфекционный процесс адаптивного иммунного ответа.

Начальный этап ЦМВ-инфекции происходит в слизистых оболочках, где, контактируя с эпителиальными клетками, инфицируются циркулирующие CD14+ моноциты периферической крови. Моноциты могут перемещаться непосредственно в костный мозг и инфицировать CD34+ гемопоэтические стволовые клетки, являющиеся основным резервуаром ЦМВ, и, таким образом, создать пожизненную латентную инфекцию [191].

Считается, что клеточно-опосредованный адаптивный иммунитет играет ключевую роль в контроле над репликацией ЦМВ. CD4+ Т-лимфоциты отвечают за формирование клеточного иммунитета, который играет роль во время первичной ЦМВ-инфекции, а также в эпизодах реактивации цитомегаловируса у реципиентов солидных органов и гемопоэтических стволовых клеток [102]. Белками-мишенями CD4+ Т-лимфоцитов являются pp65, гликопротеины В и Н, IE72, IE86 и UL69 [29, 230]. ЦМВ-специфичные CD4+ Т-клетки появляются через неделю после пика репликации ЦМВ. Эти клетки синтезируют такие цитокины как интерферон- γ (IFN- γ) и фактор некроза опухоли- α (TNF- α), и спустя время в периферической крови обнаруживают ЦМВ-специфические CD8+ Т-клетки.

CD8+ цитотоксические Т-клетки распознают эпитопы белков цитомегаловируса предсказуемым образом, определяемым HLA. Иммунодоминантные белки pp65, pp50, гликопротеины IE-1 и IE-2 составляют большую часть репертуара Т-клеток [150, 247, 248]. Эти вирус-специфичные CD8+

Т-клетки обладают способностью лизировать клетки-мишени, инфицированные цитомегаловирусом, а также подавлять репликацию [54]. В течение нескольких месяцев после первичной инфекции ЦМВ-специфические CD8⁺ Т-клетки приобретают признаки эффекторных Т-клеток памяти. Эти Т-клетки не уничтожают вирус, даже если латентная инфекция сохраняется в организме хозяина [54].

В персистирующую фазу ЦМВ уже локализуется в тканях висцеральных органов, в клетках-резервуарах. Фаза длится от нескольких месяцев до нескольких лет.

Латентная фаза – наиболее длительная фаза, которая длится пожизненно и способствует «инфляции» иммунитета, то есть формированию и поддержанию популяции ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-клеток в организме в течение последующей жизни. Как только ЦМВ инфицирует лимфоциты, клетки миелоидной линии, включая моноциты и CD34⁺ клетки, вирус переходит в латентную форму [54]. В эту фазу происходит ограниченная экспрессия вирусных генов [128, 208, 245]. В таких клетках как CD34⁺ клетки и CD14⁺ моноциты, происходит подавление экспрессии вирусных белков, что приводит к формированию латентного варианта ЦМВ-инфекции. Дифференцировка инфицированной CD34⁺ клетки в направлении макрофага или дендритной клетки приводит к экспрессии генов ЦМВ, активации репликации ДНК вируса и продукции нового вирусного поколения [190].

1.2 Реконституция адаптивного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Адаптивный иммунитет в отличие от врожденного иммунитета, который представлен макрофагами, гранулоцитами, НК-клетками, Т-клетками, тучными и дендритными клетками, обладает специфичностью, то есть способен реагировать

на специфичный антиген. Адаптивный иммунитет включает в себя два механизма – гуморальный и клеточный, которые взаимосвязаны друг с другом.

Гуморальный иммунитет, опосредованный В-лимфоцитами, направлен на свободно циркулирующие антигены или антигены на поверхности инфицированных клеток. Антитела, продуцируемые В-клетками, нейтрализуют антиген или вызывают опосредованный лизис / фагоцитоз клеток [12, 163].

Клеточный иммунитет, регулируемый Т-лимфоцитами, распознает антигены на поверхности клеток или на антигенпрезентирующих клетках (АПК). Т-хелперы высвобождают цитокины, которые помогают активированным Т-клеткам связываться с МНС-антигенным комплексом инфицированной клетки и дифференцироваться до цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) [219]. Множественные аллели МНС способны презентировать антигены цитомегаловируса цитотоксическим Т-лимфоцитам, однако специфические аллели МНС класса I доминируют в презентации [109]. По данным Т. Kawase и соавт. известно, что часто встречаемые гаплотипы HLA менее восприимчивы к ЦМВ-инфекции [121]. HLA-A*01:01, -A*02:01, -B*07:02, -B*08:01, и -C*07:02 являются наиболее иммунодоминантными аллелями ЦМВ, представляющими эпитопы pp65 [109, 124, 204, 257]. После алло-ТГСК иммунные клетки реципиента уничтожаются вместе со злокачественными или дефектными клетками в процессе кондиционирования. За счет приживления донорских стволовых клеток восстановление адаптивного иммунитета происходит медленно, в течение периода от нескольких месяцев до 1-2 лет.

1.2.1 Реконституция Т-клеточного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Активация и дифференцировка Т-клеток происходит посредством презентации антигена, ко-стимуляции и секреции цитокинов.

Антигенпрезентирующие клетки представляют антиген Т-клеткам в виде антигенного пептида. Комплексы МНС, которые распознаются Т-клеточным рецептором на Т-клетках, обеспечивают первый сигнал для активации Т-клеток. Кроме того, АПК экспрессируют ко-стимулирующие молекулы и связываются с соответствующими молекулами рецептора или лиганда на поверхности Т-клеток, таким образом создавая второй сигнал для активации Т-клеток. После активации Т-клеток дальнейшая пролиферация и дифференцировка Т-клеток зависит от цитокинов [219].

Известно, что восстановление Т-клеточного звена иммунитета после алло-ТГСК проходит несколько фаз. Для эффективной реконституции Т-клеточного иммунитета необходим функционирующий тимус [100], поэтому полное восстановление иммунитета возможно у молодых пациентов и пациентов среднего возраста и практически невозможно у пожилых ввиду инволюции и атрофии тимуса [223].

Во время первой тимуснезависимой фазы происходит экспансия Т-клеток, которые находились в трансплантате, или хозяйских Т-клеток, «выживших» после предтрансплантационного кондиционирования [100] за счет повышенной секреции цитокинов (ИЛ-7, ИЛ-15). В этой фазе в большей степени происходит экспансия Т-клеток памяти, нежели наивных Т-клеточных популяций, а также CD8⁺, нежели CD4⁺ клеток. Сама по себе экспансия является поликлональной пролиферацией и не опосредована одним антигеном.

Восстановление более разнообразного Т-клеточного репертуара происходит вторично во второй тимусзависимой фазе, где происходит *de novo* продукция наивных Т-лимфоцитов. В этой фазе в тимусе развивающиеся Т-клетки, которые связываются с собственными молекулами HLA хозяина, подвергаются позитивной селекции, а те Т-клетки, которые распознают собственные хозяйские антигены, представленные в комплексе с молекулами HLA, проходят отрицательную селекцию и трансформируются в регуляторные Т-клетки (Tregs) [107, 127].

Продукцию наивных Т-клеток из тимуса можно наблюдать с + 100 дня после алло-ТГСК, однако длительность второй фазы может достигать нескольких лет [194, 212].

Не всегда реконституция происходит «классическим» образом. Следует принимать во внимание, что, во-первых, с возрастом происходит инволюция тимуса, во-вторых, у пациентов после алло-ТГСК функция тимуса также может быть нарушена как за счет высокодозной химиотерапии, так и вследствие осложнений, а именно реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), при которой донорские Т-клетки также могут атаковать клетки тимуса [55]. В связи с этим, при тимуснезависимой фазе происходит быстрая продукция CD8⁺ Т-лимфоцитов, что приводит к инверсии соотношения клеток CD4⁺ / CD8⁺, когда в первые месяцы после трансплантации в периферической крови в подавляющем числе циркулируют CD8⁺ Т-клетки [81]. Это также приводит к экспансии периферических Т-лимфоцитов памяти (CD45RO⁺ CD27⁺ / CD45RO⁺ CD27⁻), поскольку образование наивных Т-лимфоцитов (CD45RA⁺ / CD28⁺) зависит от функциональности тимуса [149]. В любом случае абсолютное количество CD4⁺ Т-лимфоцитов, то есть регуляторных Т-лимфоцитов (Tregs) и конвенциональных CD4⁺ Т-лимфоцитов, восстанавливается в течение 2 лет после алло-ТГСК [17]. Полная реконституция же CD4⁺ Т-лимфоцитов занимает около 2 лет после алло-ТГСК [181].

1.2.2 Реконституция В-клеточного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

В-клеточная реконституция после трансплантации также носит отсроченный характер [224]. Так, в первые 2 месяца после алло-ТГСК доля В-клеток крайне мала, а нормальных значений она достигает через 12–24 месяца после трансплантации [181].

На ранних сроках после алло-ТГСК в кровотоке циркулирует минимальное количество В-клеток. Самым первым подтипом циркулирующих В-клеток в кровотоке является CD19+CD21lowCD38high, которые называют транзиторными В-клетками. Их количество впоследствии уменьшается, в то время как количество зрелых CD19+ CD21highCD27- клеток (наивные В-клетки) увеличивается. Наивные В-клетки достигают нормальных значений к + 6 месяцу после алло-ТГСК и максимальных до 24 месяцев после миелоаблативных режимов кондиционирования [155]. Полное восстановление В-клеточного звена иммунитета включает восстановление как наивных, так и CD19+CD27+ В-клеток памяти. Восстановление В-клеток памяти происходит при взаимодействии с антигенами из окружающей среды или введением антигенов с вакциной. Это восстановление требует также взаимодействия с CD4+ Т-лимфоцитами, таким образом, отсроченная реконституция Т-клеток и нарушенное соотношение CD4+ / CD8+ также влияют на скорость восстановления В-клеток [224]. Таким образом, полное развитие и созревание CD19+CD27+ В-клеток памяти может занять до 5 лет после алло-ТГСК [181].

Применение антитимоцитарного глобулина (АТГ) также ассоциировано с отсроченной реконституцией В-клеток в раннем периоде после трансплантации. Количество циркулирующих CD27+ В-клеток памяти в первые 30 дней было значимо ниже, а число CD19+ В-клеток было существенно ниже ($p < 0,05$) вплоть до +5 месяца после трансплантации по сравнению с когортой пациентов без включения АТГ [196].

В работе J. Storek и соавт. было показано, что при развитии как острой, так и хронической РТПХ, наблюдали отсроченную реконституцию В-клеток. Доля предшественников В-клеток на 30 день в костном мозге была значимо меньше у пациентов с РТПХ II–IV степени по сравнению с пациентами с РТПХ 0–I степени, а также у пациентов с тяжелой формой хронической РТПХ на 365 день [225].

1.2.3 Реконституция ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Т-клетки являются наиболее важными эффекторными клетками, осуществляющими контроль за вирусными инфекциями. Первая фаза вирус-специфичной Т-реконституции и экспансии зависит от «переноса» зрелых вирус-специфичных клеток (эффекторных клеток, клеток памяти, наивных клеток) с трансплантатом [181].

Контроль за ЦМВ-инфекцией осуществляется преимущественно CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами. CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки играют ключевую роль в защите от вирусных и грибковых инфекций, а также обеспечивают эффект реакции «трансплантат против лейкоза» [181].

Восстановление CD8⁺ Т-лимфоцитов происходит быстрее и, как правило, происходит к +100 дню после алло-ТГСК, что напрямую связано с режимом кондиционирования и схемами профилактики РТПХ [114]. Таким образом, ввиду отсроченной реконституции ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-лимфоцитов, возникновение ЦМВ-инфекции происходит чаще именно в ранние сроки после алло-ТГСК (первые +100 дней после алло-ТГСК) [210], задержка реконституции ЦМВ-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов предрасполагает к развитию ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни [34, 241].

1.3 Факторы, влияющие на реконституцию иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в раннем посттрансплантационном периоде

На основании анализа множества литературных источников известно, что исследователи описывают влияние различных факторов и состояний на

реконституцию иммунной системы, в частности на восстановление вирус-специфического иммунитета.

1.3.1 Режим предтрансплантационного кондиционирования и его влияние на реконституцию иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Миелоаблативные режимы кондиционирования (МАС) характеризуются токсичностью и ассоциированной с ней высокими показателями летальности, связанной с трансплантацией. Панцитопения, вызванная МАС, носит длительный и чаще всего необратимый характер и в большинстве случаев приводит к летальному исходу, если гемопоэз не восстанавливается трансфузией гемопоэтических стволовых клеток [23]. Одним из потенциальных преимуществ режимов кондиционирования пониженной интенсивности (RIC) является более быстрое восстановление иммунитета после алло-ТГСК ввиду меньшей токсичности препаратов и, следовательно, меньшего повреждения тимуса. Таким образом, регенерация наивных Т-клеток, полученных из претимусных донорских стволовых клеток, и пролиферация иммунологически компетентных Т-клеток хозяина, которые сохранились после проведенного режима кондиционирования, происходит быстрее.

Работа Н. Накамае и соавт. продемонстрировала, что в первые 100 дней после алло-ТГСК частота выявления ЦМВ-инфекции в группах МАС и RIC была сопоставима, однако, после RIC отмечали более высокую частоту развития поздней ЦМВ-болезни. В работе также обсуждается предположение, что до 100 дня остаточные резидуальные клетки хозяина (ЦМВ-специфические клетки памяти) после RIC влияют на уменьшение скорости репликации ЦМВ, однако этот эффект, по-видимому, не защищает от отдаленных осложнений ЦМВ-инфекции. Несколько исследований описывают, что Т-клетки памяти хозяина после RIC могут

персистировать в кровотоке [27, 156]. Общая выживаемость пациентов в исследуемых группах была сопоставима [171]. В другом исследовании, в котором оценивалось влияние режимов кондиционирования на частоту развитие ЦМВ-болезни было показано, что частота развития ЦМВ-болезни была одинаковой в обеих группах [118].

1.3.2. Влияние источника трансплантата на реконституцию иммунитета у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Во многих публикациях исследователи сравнивали восстановление различных клеточных популяций в зависимости от источника трансплантата. Например, медиана приживления нейтрофилов (более $0,5 \times 10^9/\text{л}$) при использовании периферических стволовых клеток крови (СКК) составила 14–15 дней, при костном мозге (КМ) и пуповинной крови – 30 день и 19–21 день, соответственно [181, 182].

Иная картина наблюдается относительно восстановления $CD4^+$ клеток (более $0,5 \times 10^9/\text{л}$). Так, для КМ и пуповинной крови время восстановления составило 2-3 месяца, в то время как для СКК – 6 месяцев [56, 167].

Восстановление цитотоксических лимфоцитов $CD8^+$ (более $0,25 \times 10^9/\text{л}$) наиболее длительно наблюдалось для СКК и составило 9 месяцев, а для КМ – 3 месяца после алло-ТГСК [76].

Несмотря на это было показано, что реконституция иммунитета происходит быстрее при использовании СКК в качестве источника трансплантата, так как вместе со стволовыми клетками в трансплантате находится большое количество донорских Т- и В-лимфоцитов, как описывает J. Storek и соавт. в 10 раз больше, по сравнению с костным мозгом [224].

В публикации Х.-Н. Луо было показано, что источник стволовых клеток является прогностическим фактором, влияющим на реконституцию ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов [146]. В работе М. Наккі было продемонстрировано, что в случае применения СКК в качестве источника трансплантата у пациентов отмечали более быстрое восстановление ЦМВ-специфичных ЦТЛ и CD4+ Т-клеток, чем у реципиентов костного мозга [101].

Эти результаты также можно объяснить тем, что СКК в качестве трансплантата содержат большее количество лимфоцитов и большее количество CD4+CD45RO+ Т-клеток памяти, по сравнению с КМ, что также подтверждается в исследовании J. Jansen [117].

1.3.3 Влияние режимов профилактики реакции «трансплантат против хозяина» на реконституцию иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Существуют три подхода для выполнения Т-клеточной деплеции в клинической практике: Т-клеточная деплеция с применением АТГ, *ex vivo* Т-клеточная деплеция (TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция *ex vivo*, CD34+ селекция) и Т-клеточная деплеция с применением посттрансплантационного циклофосфида (ПТ-ЦФ) [147]. Несмотря на то, что все эти методы в настоящее время широко используются для профилактики развития РТПХ, особенно у пациентов после гаплоидентичной ТГСК, данная процедура ассоциирована с отсроченной реконституцией иммунитета, склонностью к рецидивирующим инфекционным осложнениям, высокой вероятностью развития рецидива заболевания, так как сопряжена с более выраженным иммуносупрессивным влиянием [45, 154, 169].

Антитимоцитарный глобулин (АТГ) приводит к *in vivo* Т-клеточной деплеции [170]. Существуют два вида АТГ: кроличий и лошадиный АТГ, которые оказывают эффект индуцированной лимфопении и влияют на Т-регуляторные

клетки. Кроличий АТГ (тимоглобулин) ассоциирован с более выраженной лимфодеплецией Т-лимфоцитов [202]. Было показано, что применение АТГ при неродственных алло-ТГСК уменьшает вероятность развития РТПХ, а также показатели летальности, связанной с трансплантацией [123]. В большой работе, включающей рандомизированные исследования на группе 1348 пациентов, проведенном Х. Yang и соавт. было показано, что применение АТГ снижало вероятность развития острой РТПХ III–IV степени ($p = 0,001$) и хронической РТПХ ($p < 0,001$), однако статистически достоверного влияния на улучшение показателей общей и безрецидивной выживаемости, летальности, не связанной с рецидивом, обнаружено не было. В работе не было обнаружено связи с включением АТГ и развитием ЦМВ- и грибковых инфекций [254]. В другой работе описано, что применение АТГ приводит к длительному снижению числа CD4+ Т-клеток и CD4+CD25+CD127- Т-регуляторных клеток, что, как демонстрируют исследования, предрасполагает к развитию тяжелых инфекционных осложнений [131, 216].

В работе М. Mardani и соавт. по изучению влияния режимов кондиционирования и химиотерапевтических препаратов на частоту развития ЦМВ-инфекции было продемонстрировано, что у пациентов, получающих АТГ в схеме профилактики РТПХ, ЦМВ-инфекцию констатировали в 2,6 раза чаще ($p = 0,002$) [153]. Т.-J. Yeh и соавт. описали, что кумулятивная частота развития ЦМВ-инфекции в случае применения АТГ составила 65,2% против 45,1% в когорте пациентов без АТГ ($p = 0,003$) [256].

Процедура TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеции имеет ряд преимуществ, а именно быстрое приживление с меньшей вероятностью развития РТПХ [25, 30]. Несмотря на это, отсроченная реконституция адаптивного иммунитета и высокие по сравнению с неманипулированными трансплантатами показатели летальности, связанной с трансплантацией (особенно вследствие вирусных инфекций) [47, 261], ограничивают применение этой методики Т-деплеции [192].

Противовирусный иммунитет после $\text{TCR}\alpha\beta\text{-}/\text{CD}19\text{-}$ деплеции осуществляется посредством врожденного иммунитета, преимущественно за счет натуральных киллеров и γ/δ Т-клеток [14, 103, 168, 207].

По данным M. de Witte и соавт. у ЦМВ-серопозитивных пациентов после гапло-ТГСК с применением $\alpha\beta/\text{CD}19\text{+}$ Т-деплеции в первые 100 дней частота развития ЦМВ-инфекции составила 41% и 65% в течение 2 лет после алло-ТГСК [249], что примерно сопоставимо с данными A. Laberko и соавт., где ЦМВ-инфекция составила 51%. Отмечен тот факт, что выбор ЦМВ-серонегативного донора для ЦМВ-серопозитивного реципиента должен быть исключен [132].

Высокая частота развития ЦМВ-инфекции отмечается у пациентов с острыми лейкозами после $\text{TCR}\alpha\beta\text{-}/\text{CD}19\text{-}$ деплеции и составляет 73,5–81% [119]. В работе H. Nazir показано, что чаще ЦМВ-инфекция развивается с +1 до +24 дня после алло-ТГСК [173].

В работах российских авторов кумулятивная частота развития ЦМВ-инфекции в течение 1 года после трансплантации с применением $\text{TCR}\alpha\beta\text{-}/\text{CD}19\text{-}$ деплеции составила 51% [132].

Применение ПТ-ЦФ впервые было описано в John Hopkins University в исследовании L. Luznik и соавт. как новая стратегия профилактики РТПХ у пациентов после гаплоидентичной ТГСК [148]. Эффект ПТ-ЦФ проявляется в элиминации аллореактивных донорских Т-лимфоцитов *in vivo*, активированных сразу после ТГСК, с сохранением Т-регуляторных клеток. Влияние циклофосфида на Т-клеточный иммунитет было описано ранее у пациентов после трансплантации от гаплоидентичного донора [148], а также исследовано на мышинных моделях. Было показано, что на +3 – +7 дни после алло-ТГСК наблюдается активная пролиферация аллореактивных донорских эффекторных $\text{CD}8\text{+}$ Т-лимфоцитов и сниженная, но продолжающаяся пролиферация выживших аллореактивных донорских $\text{CD}4\text{+}$ Т-лимфоцитов хозяина, как эффекторных, так и Т-регуляторных клеток [179]. Таким образом, применение ПТ-ЦФ на +3, +4 день направлено именно на элиминацию тех аллореактивных донорских $\text{CD}4\text{+}$ Т-

лимфоцитов, которые особенно активно пролиферируют в этот период [240]. Режимы профилактики РТПХ на основе ПТ-ЦФ ассоциированы с отсроченной реконституцией CD4⁺ Т-лимфоцитов, но более быстрым восстановлением В-клеточного иммунитета и более высокой частотой развития инфекционных осложнений по сравнению с «классическими» схемами профилактики РТПХ [125, 184].

О. Jamy и соавт. описали, что применение ПТ-ЦФ ассоциировано с высокой вероятностью развития ЦМВ-инфекции. Так, при однократном введении ПТ-ЦФ вероятность ЦМВ-инфекции составила 39% против 61%, когда выполняли двукратное введение ($p = 0,009$) [115]. В работах разных авторов частота развития ЦМВ-инфекции после ПТ-ЦФ варьирует в пределах 42,0–69,2% [75, 78, 93, 94], а развитие ЦМВ-болезни отмечают в 2,8–4,5% случаев [78, 94]. В некоторых работах описан «двойной» подход к Т-деплеции, основанный на применении как АТГ, так и ПТ-ЦФ [200], приводящий к более выраженной иммуносупрессии. Так, в работе А. Law и соавт., где для гаплоидентичной ТГСК применяли АТГ, ПТ-ЦФ и циклоспорин после режима кондиционирования пониженной интенсивности, ЦМВ-инфекция возникала в 74% случаев среди 37 пациентов, а ЦМВ-болезнь – 11,5% [133].

1.3.4. Терапия реакции «трансплантат против хозяина» и ее влияние на реконституцию иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Известно, что острая РТПХ является следствием формирования иммунного ответа против тканей и органов реципиента / хозяина. На вероятность развития острой РТПХ в большей степени влияют несовместимость донора и реципиента по системе HLA, несовместимость по полу, интенсивность применяемого режима кондиционирования, источник гемопоэтических стволовых клеток, а также ЦМВ-

реактивация [113]. Одним из факторов риска развития также может явиться несовместимость по так называемым минорным антигенам [113].

РТПХ подавляет функции Т-лимфоцитов, ограничивая разнообразие Т-клеточного рецептора, дифференцировку Т-клеток и нарушая продукцию цитокинов [32]. Также острая РТПХ снижает функциональную активность тимуса, роль которого заключается в созревании гемопоэтических предшественников и развитии Т-клеток, что ухудшает восстановление CD4⁺ Т-клеток и снижает вариабельность Т-клеточного рецептора. Таким образом, лимфопения и ограниченность репертуара CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток способствуют реактивации вирусных инфекций, в том числе и ЦМВ-инфекции [22, 32].

Терапия острой РТПХ подразумевает назначение иммуносупрессивных препаратов, что также приводит к увеличению риска развития инфекций за счет нарушения функционального восстановления ЦМВ-специфичных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Например, в работе Y. Matsumura-Kimoto и соавт. было продемонстрировано, что на фоне терапии глюкокортикостероидами (ГКС) у пациентов после алло-ТГСК частота развития грибковых инфекций, ЦМВ-болезни и бактериальных инфекций составила 14%, 21%, 20%, соответственно [160]. Использование системных ГКС, наряду с возникновением РТПХ, является фактором риска различных инфекционных заболеваний, которые влияют на показатели летальности, связанной с трансплантацией [226, 243]. Было показано, что при применении ГКС восстановление ЦМВ-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов наблюдалось на сроке +180 дней после алло-ТГСК, что на 80 дней позже, чем без применения ГКС [228].

В работе M. Nakki и соавт. на основании многофакторного анализа и оценке функциональной активности CD4⁺ и CD8⁺ клеток было показано, что доза и кумулятивное количество полученных стероидов влияют на восстановление функций как CD4⁺ ($p < 0,0001$), так и CD8⁺ ($p = 0,06$). В случае назначения ГКС 2 мг/кг/сутки, 1 мг/кг/сутки и менее 1 мг/кг/сутки восстановление функции CD4⁺ клеток отмечали у 1,8%, 57,4%, 74%, соответственно ($p < 0,0001$).

М. Suarez-Lledo и соавт. в своей работе показали, что у пациентов после алло-ТГСК, получавших ГКС в дозе более 1 мг/кг/сутки, частота развития ЦМВ-инфекции была выше и составила 70% против 40% для пациентов без ГКС. Рецидивирующая ЦМВ-инфекция наблюдалась в 55% случаев у пациентов, получающих преднизолон, по сравнению с когортой пациентов без преднизолона 18%. Восстановление количества CD8+ клеток более 1 / мкл у пациентов на фоне ГКС происходило после 100 дня [228]. Таким образом, скорость реконституции в случае назначения глюкокортикостероидов носит дозозависимый характер [101].

1.4 Влияние цитомегаловирусной инфекции на исходы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Частота развития ЦМВ-инфекции после алло-ТГСК по разным данным составляет 30–70% и характеризуется высокими показателями безрецидивной смертности. Смертность, связанная с тяжелыми формами ЦМВ-болезни, составляет 45–60% [141, 142, 151, 232]. ЦМВ-инфекция оказывает прямое и косвенное воздействие на общую выживаемость и качество жизни пациентов после алло-ТГСК [35, 114, 142].

1.4.1 Влияние цитомегаловирусной инфекции на развитие реакции «трансплантат против хозяина»

Во многих исследованиях было описано, что ЦМВ-инфекция является фактором риска развития РТПХ [44, 229]. Как показал А. Grefte и соавт., инфицированные цитомегаловирусом эндотелиальные клетки продуцируют провоспалительные цитокины, например, ИЛ-6, который, в свою очередь, имеет решающее значение в начальной фазе развития РТПХ. Назначение для терапии

РТПХ иммуносупрессивной терапии также ассоциировано с высоким риском развития ЦМВ-инфекции. При многофакторном анализе показано, что пациенты имели более высокий риск развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (oРТПХ) во время эпизодов ЦМВ-инфекции, однако, сопутствующая репликация ЦМВ существенно не влияла на степень тяжести РТПХ [44]. При острой РТПХ II–IV степени, сопровождаемой терапией высокими дозами ГКС, риск развития ЦМВ-инфекции составляет 61%, что значительно выше, чем при острой РТПХ I степени без назначения ГКС – 35% [44]. Описаны и противоположные данные, как, например, в работе P. Teira и соавт., когда обнаружение ЦМВ-репликации в ранние сроки после алло-ТСГК не ассоциировано с вероятностью развития хронической РТПХ [232].

1.4.2 Влияние цитомегаловирусной инфекции на развитие рецидива после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

В работе B. Lounqvist в 1986г. впервые описано потенциальное влияние ЦМВ-инфекции на снижение вероятности развития рецидива основного заболевания у пациентов после алло-ТГСК [145]. В последующем появились и другие публикации, например, работа N. Cantoni и соавт., где указано, что ЦМВ-серопозитивность донора и реципиента ассоциирована с более низкой вероятностью развития рецидива у детей с острыми лейкозами после алло-ТГСК [28]. Однако, подавляющее число публикаций посвящено взаимосвязи ЦМВ-инфекции и рецидива острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Так, в работе A. Elmaagacli и соавт. отмечено, что у пациентов с ОМЛ частота развития рецидива с сопутствующей ЦМВ-инфекцией и без ЦМВ-инфекции составила 9% и 42%, соответственно [70].

В публикации M. Green и соавт. показано, что развитие ЦМВ-инфекции в первые 100 дней после алло-ТГСК связано с умеренным снижением риска развития

раннего рецидива у пациентов с ОМЛ [96]. Существуют публикации, например, S. Ito и соавт., где было показано, что ЦМВ-инфекция, возникающая до 100 дня после алло-ТГСК, является независимым фактором, ассоциированным с уменьшением вероятности развития рецидива у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) [111]. Для пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), миелодиспластическим синдромом (МДС) и лимфопролиферативными заболеваниями такой связи не было обнаружено [96, 258]. Наблюдаемый противолейкемический эффект может быть опосредован индуцированной ЦМВ экспансией донорских NKG2C+ NK-клеток и $\gamma\delta$ T-клеток, а также CD8+ клеток, ко-экспрессирующих CD56+ и CD57+, которые, в свою очередь, активируют цитотоксические T- и NK-клетки, которые, вероятнее, и атакуют инфицированные ЦМВ опухолевые клетки [71]. Описаны механизмы, когда при ЦМВ-инфекции может происходить экспансия зрелых NK-клеток CD56dimNKG2C+CD57+, которые усиливают продукцию IFN- γ и опосредуют реакцию «трансплантат против опухоли» (РТПО) [57], а также механизмы перекрестного реагирования $\gamma\delta$ T-клеток, распознающих пептиды ЦМВ и реагирующих против опухолевых клеток [203].

Таким образом, реакция иммунной системы на ЦМВ-инфекцию может снижать вероятность развития рецидива у пациентов с острым миелоидным лейкозом, хроническим миелолейкозом [259]. Однако, несмотря на множество публикаций, посвященных взаимосвязи ЦМВ-инфекции и рецидива, ряд авторов выдвинули предположение, что ЦМВ-специфичный T-клеточный иммунитет, как таковой, не влияет на риск развития рецидива, а ключевую роль в этом играют скорость реконституции иммунной системы после алло-ТГСК [11, 116].

1.4.3 Цитомегаловирусная инфекция и несостоятельность трансплантата

Несостоятельность трансплантата определяется как отсутствие первоначального приживания донорских клеток (первичная несостоятельность

трансплантата) или потеря донорского кроветворения после первоначального приживления (вторичная несостоятельность трансплантата) [183].

Факторы риска несостоятельности трансплантата включают несовместимость по HLA, АВ0, применение режимов кондиционирования пониженной интенсивности, диагноз (апластическая анемия, гемоглобинопатии, МДС, миелофиброз), применение костного мозга в качестве источника ГСК, доза CD34+ клеток, применение Т-клеточной деплеции [108, 144].

Более детально вопрос о «несостоятельности» (отторжения) трансплантата изучен у реципиентов солидных органов. Инфицирование донора цитомегаловирусом приводило к развитию отторжения у реципиентов печени [42, 180, 197] и почки [53, 85, 189]. У пациентов после трансплантации почки описан механизм отторжения трансплантата, когда инфицирование цитомегаловирусом эндотелиальных клеток сосудов приводит к васкулопатиям и последующему отторжению [85].

На основании описанных механизмов развития несостоятельности трансплантата у реципиентов солидных органов можно предположить, что несостоятельность у реципиентов аллогенных ГСК происходит с подобным механизмом развития, т.е. инфицированность ЦМВ гемопоэтических клеток донора и иммунный ответ, связанный с этим, потенциально могут выступить причиной развития несостоятельности трансплантата у пациентов после алло-ТГСК.

До сих пор не существует убедительных данных, указывающих на прямое влияние ЦМВ-инфекции на несостоятельность трансплантата. В единичных исследованиях отмечено, что ЦМВ-инфекция может быть ассоциирована с развитием цитопении и, потенциально, развитием несостоятельности [53]. В публикации С. Solano и соавт. не было обнаружено взаимосвязи между ранней репликацией ЦМВ и таким осложнением как несостоятельность трансплантата [218].

1.5 Факторы риска развития цитомегаловирусной инфекции у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

В раннем посттрансплантационном периоде на этапе до приживления трансплантата в основном развиваются бактериальные и грибковые инфекции, по поводу которых в этот период проводят лекарственную профилактику. В дальнейшем в первые +100 дней после алло-ТГСК ввиду индуцированного трансплантацией иммунодефицита (снижения количества НК-клеток и Т-клеток) наблюдают высокую частоту реактивации вирусных инфекций, особенно герпесвирусных [1, 49, 87].

Ряд исследований подтверждают, что ЦМВ-инфекция развивается в основном в первые 100 дней после трансплантации [126, 220].

В исследовании Н. Sousa медиана развития ЦМВ-инфекции составила 29 дней, а в первые 100 дней после алло-ТГК ЦМВ-инфекцию констатировали в 90,2% случаев [220]. В работе Р. Teira и соавт. медиана развития ЦМВ-инфекции после алло-ТГСК составила 41 день (1–362 дня) [232], а по данным J. He – 44 дня [105].

Отдельное место занимает определение факторов риска развития ЦМВ-инфекции. Так, в работе М. Dziedzic и соавт. показано, что наиболее значимыми факторами риска развития ЦМВ-инфекции являются выбор ЦМВ-серонегативного донора для ЦМВ-серопозитивного реципиента, острая или хроническая РТПХ, вид донора (неродственный совместимый донор или неродственный частично совместимый донор) [66].

В исследовании N. Jakharía и соавт. выделяют такие факторы риска развития ЦМВ-инфекции как *ex vivo* и *in vivo* Т-деплецию, высокие дозы глюкокортикостероидов для системной терапии РТПХ, частично совместимый или неродственный донор, а также развитие РПТХ [114].

В работе Н. Sousa и соавт. статистический анализ не выявил значимой связи развития ЦМВ-инфекции с полом, возрастом, основным заболеванием, источником

стволовых клеток, режимом предтрансплантационного кондиционирования, ЦМВ-серопозитивностью донора, развитием РТПХ. Единственным статистически значимым фактором, влияющим на развитии ЦМВ-инфекции являлась ЦМВ-серопозитивность реципиента ($p < 0,001$) [220].

У детей после алло-ТГСК независимыми факторами риска развития ЦМВ-инфекции в работе М. Sedky были выделены ЦМВ-серопозитивность реципиента ($p < 0,05$), доза ГКС ≥ 2 мг/кг/сутки ($p < 0,01$), применение АТГ ($p < 0,01$) [209].

В работе китайских исследователей под руководством J. He показано влияние на частоту развития ЦМВ-инфекции несоответствия по HLA, применения АТГ, длительности нейтропении после алло-ТГСК более 10 дней, развития РТПХ [105].

В недавнем исследовании T.-G. Yen и соавт. вероятность развития ЦМВ-инфекции в случае наличия несовместимого донора, ЦМВ-серонегативного донора и применения АТГ была выше и составила 55% (у 99 из 180 пациентов) в первые 100 дней после алло-ТГСК, а медиана развития ЦМВ-инфекции составила 27 дней [256].

По данным российских авторов в многофакторном анализе было выявлено, что развитие ЦМВ-инфекции ассоциировано с вариантом заболевания, где для гемобластозов частота ЦМВ-инфекции составила 58% против неопухолевых заболеваний крови 39%, соответственно ($p = 0,03$), и фактом развития острой РТПХ II–IV степени ($p = 0,003$) [132].

Ниже подробнее рассмотрены наиболее значимые факторы риска развития ЦМВ-инфекции.

1.5.1. Серологический статус донора и реципиента

«ЦМВ-серопозитивность» (наличие иммуноглобулинов класса G к белкам ЦМВ (анти-CMV-IgG)) реципиента и / или донора является важным фактором риска ЦМВ-инфекции [10].

По литературным данным ЦМВ-инфекция развивается у примерно 60–70% ЦМВ-серопозитивных пациентов, а первичная ЦМВ-инфекция поражает от 20 до 30% ЦМВ-серонегативных пациентов, которым ТГСК была выполнена от серопозитивного донора [69]. У ЦМВ-серопозитивных реципиентов существует больший риск реактивации ЦМВ-инфекции (до 80%) и прогрессирования до ЦМВ-болезни независимо от ЦМВ-статуса донора [142]. ЦМВ-серопозитивные пациенты, перенесшие алло-ТГСК, имеют более высокие показатели смертности после трансплантации по сравнению с ЦМВ-серонегативными пациентами, особенно при выполнении ТГСК от неродственного или частично совместимого донора [234]. Если ЦМВ-серонегативный реципиент получает трансплантат от ЦМВ-серопозитивного донора (D+ / P-), то ЦМВ-инфекция определяется в 20–30% случаев.

В работе M. Dziedzic и соавт. было показано, что в группе D- / P+ отмечают высокие показатели ЦМВ-инфекции, так как по сравнению с парами D+ / P+ реципиенты ГСК от ЦМВ-серонегативного донора получают с трансплантатом меньшее количество CD8+ ЦМВ-специфичных клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины (фактор некроза опухоли- α , интерферон-гамма, маркер дегрануляции CD8+клеток и др.) [66].

В двух крупных исследованиях, включающих около 26000 пациентов после алло-ТГСК, показано, что ЦМВ-инфекция составила 32–33% для пары D- / P+, 28–32% – для D+ / P+, 9–11% – для D+ / P- и 2–4% – для D- / P- [205, 232].

О важности серологического статуса и совместимости по HLA при выборе донора ведутся споры. На основании ЦМВ-серологического статуса D / P происходит также выбор схемы профилактики РТПХ [260]. Совместимость донора и реципиента в соответствии с HLA является наиболее важным фактором при выборе донора, но, когда это возможно, следует отдавать предпочтение ЦМВ-серонегативному донору [37]. В случае пары D- / P- редко развиваются серьезные осложнения, связанные с ЦМВ-инфекцией.

Стоит также отметить важность контроля безопасности гемотрансфузионной поддержки пациентов в посттрансплантационном периоде, так как существует риск инфицирования цитомегаловирусом ЦМВ-серонегативного реципиента через компоненты крови. Для уменьшения риска развития гемотрансмиссивной ЦМВ-инфекции, необходимо обеспечить трансфузии «безопасных» компонентов крови (лейкоредуцированных и / или негативных по анти-CMV-IgG) [80, 244].

В других исследованиях отмечено, что ЦМВ-серопозитивность в большей степени распространена среди женщин и, соответственно, вероятность ЦМВ-инфекции выше среди женщин [37].

1.5.2. Тип донора и риск развития цитомегаловирусной инфекции

Степень несоответствия по HLA является важным фактором, влияющим на реконституцию иммунитета.

В работе К. Takenaka и соавт. было показано, что частота возникновения ЦМВ-инфекции была значимо выше после ТГСК от неродственного донора ($p < 0,001$) [231]. В публикации А. Raiola и соавт. частота развития ЦМВ-инфекции была сопоставима и составила 58% для родственного совместимого донора, 60% – для неродственного совместимого донора, 60% – для неродственного частично совместимого донора, 68% – для пуповинной крови, 74% – для гаплоидентичного донора ($p = 0,004$) [186].

Известно, что ЦМВ-инфекция является частым осложнением у пациентов после выполнения ТГСК с использованием пуповинной крови в качестве источника трансплантата за счет отсроченной иммунной реконституции. С усовершенствованием трансплантационных технологий количество ТГСК с использованием пуповинной крови снижается из-за увеличения внедрения гаплоидентичных ТГСК [3, 41].

В публикации Y.-J. Chang и соавт. отмечено, что кумулятивная частота ЦМВ-антигенемии была значительно выше после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора по сравнению с HLA-совместимыми донорами и составила $49,9 \pm 7,2\%$ против $13 \pm 7\%$, ($p = 0,007$) [48].

Помимо более отсроченной реконституции иммунитета у когорты пациентов с ПТ-ЦФ, в работе G.-C. Irene и соавт. отмечено, что после гаплоидентичной ТГСК частота развития ЦМВ-инфекции в течение 18 месяцев после трансплантации составила 61% против 44% для другого вида донора [110]. В немецкой работе под руководством J. Tischer и соавт. ЦМВ-инфекция в группе пациентов после гапло-ТГСК с применением ПТ-ЦФ и гапло-ТГСК с TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией составила 30% против 57%, соответственно [233]. В работе С.-Н. Lin и соавт. ЦМВ-инфекцию в течение 180 дней отмечали чаще после гапло-ТГСК (85,7%) по сравнению с ТГСК от совместимого родственного (39%) и неродственного донора (55,6%), что являлось статистически значимым ($p < 0,0000$) [137]. В публикации T.-G. Yeh и соавт. кумулятивная частота развития ЦМВ-инфекции в первые 100 дней после алло-ТГСК составила 44,4% для родственных совместимых, 62,5% для несовместимых и 69% для неродственных совместимых ТГСК ($p = 0,005$) [256].

Таким образом, можно сделать предположение, что риск развития ЦМВ-инфекции ассоциирован с увеличением иммуносупрессии для профилактики РТПХ у пациентов после алло-ТГСК от гаплоидентичного, частично совместимого или неродственного донора.

1.5.3 Влияние режима предтрансплантационного кондиционирования на развитие цитомегаловирусной инфекции

В двух работах описано, что частота возникновения ЦМВ-инфекции после МАС выше, по сравнению с режимами кондиционирования пониженной интенсивности [158, 171]. W. Nichols отметил, что применение тотального

облучения тела являлось фактором риска ЦМВ-инфекции [178]. В более поздних публикациях, например, в статье С. Junghanss и соавт. было показано, что в течение первого года после трансплантации частота развития ЦМВ-инфекции была сопоставима после режимов кондиционирования пониженной интенсивности и миелоаблативных режимов. Однако, исследователи отметили, что различия отмечались в сроках возникновения ЦМВ-инфекции, а именно что ЦМВ-болезнь после RIC чаще наблюдали после 100 дня, в то время как после MAC – преимущественно в ранний посттрансплантационный период [118]. В работе Н. Nakamae и соавт. также было показано, что частота развития ЦМВ-инфекции в группах пациентов после RIC и MAC значимо не отличалась, а ЦМВ-болезнь констатировали на более поздних сроках после алло-ТГСК. Кроме того, исследователи отметили более высокую ЦМВ-виремию в группе после немиелоаблативных режимов кондиционирования [171].

Таким образом, на основании анализа литературных источников однозначные выводы о влиянии режима предтрансплантационного кондиционирования на частоту развития ЦМВ-инфекции сделать невозможно.

1.5.4 Режим профилактики реакции «трансплантат против хозяина» как фактор риска развития цитомегаловирусной инфекции

Выбор схемы иммуносупрессивной терапии также является значимым фактором риска развития ЦМВ-инфекции.

Риск развития ЦМВ-инфекции зависит от выраженности иммуносупрессии, что проявляется в нарушении Т-клеточного иммунитета, а именно в наличии и функциональной активности ЦМВ-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов [227]. Во многих работах было показано, что дефицит CD4⁺ клеток (менее 100 x 10⁹/л) и низкое количество CD8⁺ Т-лимфоцитов (менее 50 на микролитр) связаны с высоким риском реактивации ЦМВ-инфекции. Дефицит Т-

клеток через 3 месяца после трансплантации является фактором риска развития поздней ЦМВ-болезни [101, 213].

Так, частота возникновения ЦМВ-инфекции у пациентов после применения посттрансплантационного циклофосфамида по разным источникам составляет 35–76% [24, 59, 148, 187, 214]. Применение режимов профилактики РТПХ, включающих сиролимус, сопряжено с более низкой вероятностью развития ЦМВ-инфекции [158].

1.5.5. Влияние развития реакции «трансплантат против хозяина» на развитие цитомегаловирусной инфекции

В более ранних публикациях W. Miller и соавт. было показано, что частота ЦМВ-инфекции у пациентов с РТПХ, требующей терапии системными стероидами и топическими, сопоставима. Авторы сделали выводы, что при ЦМВ-инфекции эффект иммуносупрессии, вызванной самой РТПХ, более выражен, чем иммуносупрессивный эффект терапии, используемой для лечения РТПХ [165].

В многофакторном анализе, выполненном M. Yanada и соавт. описано, что острая РТПХ II–IV степени была единственным фактором риска развития антигенемии ЦМВ [253]. В работе K. Takenaka и соавт. было показано, что ЦМВ-инфекция возникала в 51% случаев при развитии острой РТПХ II–IV степени, что являлось статистически значимым ($p < 0,001$) [231].

На основании многофакторного анализа, проведенного B. Valadkhani и соавт. было продемонстрировано, что все пациенты, у которых отмечали развитие РТПХ, были в группе высокого риска развития ЦМВ-инфекции ($p = 0,002$), однако статистически значимых различий по частоте развития ЦМВ-инфекции в группе больных с РТПХ I степени и II–IV степени обнаружено не было ($p = 0,09$). Принимая во внимание, что пациенты с РТПХ I степени не получают системные стероиды в качестве терапии, а частота возникновения у них ЦМВ-инфекции

сопоставима со случаями относительно более тяжелых степеней РТПХ, факт развития РТПХ является независимым фактором риска развития ЦМВ-инфекции у пациентов после алло-ТГСК [237].

Следовательно, на основании множества публикаций и литературных данных доказано, что РТПХ является значимым фактором риска развития ЦМВ-инфекции.

1.6 Методы оценки цитомегаловирус-специфического Т-клеточного иммунитета

Во время активной ЦМВ-инфекции происходит увеличение высвобождения IFN- γ ЦМВ-специфичными цитотоксическими лимфоцитами, что приводит к продукции различных цитомегаловирусных белков, таких как pp50 и pp65, гликопротеин В (gB) и немедленный ранний IE-1 и IE-2 [10, 102, 152].

1.6.1 Диагностические тесты для оценки цитомегаловирус-специфичных Т-клеток

Методы оценки количества ЦМВ-специфичных Т-клеток основаны на обнаружении INF- γ , который продуцируется CD4+ и CD8+ Т-клетками в крови или в клетках после стимуляции *ex vivo* антигенами ЦМВ. Эта методика проводится на основании различных анализов, например, QuantiFERON-CMV, T-spot.CMV, T-track.CMV и др.

QuantiFERON-CMV тест – это функциональный тест для мониторинга Т-клеток, который измеряет секрецию IFN- γ ЦМВ-специфическими CD8+ Т-клетками в цельной крови после стимуляции пулом определенных пептидных эпитопов, ограниченных МНС класса I, из нескольких антигенов ЦМВ, включая pp65, IE-1, IE-2, pp50 и gB.

В основе иммуноферментного анализа (ELISPOT) или анализа T-spot.CMV лежит измерение количества продуцирующих IFN- γ ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов при стимуляции *ex vivo*. Результат оценивается на основании определения количества точечно-образующих единиц (SFU = spot-forming units) [26, 102, 174]. В зависимости от используемых лабораторией протоколов происходит стимуляция разными антигенами ЦМВ.

1.6.2 Оценка цитомегаловирус-специфичных Т-клеток методом внутриклеточного окрашивания цитокинами

Метод внутриклеточного окрашивания обнаруживает различные воспалительные цитокины, такие как IFN- γ , TNF- α , интерлейкин-2 (IL-2) и IL-6, продуцируемые Т-клетками. Для этого чаще всего проводят стимуляцию *ex vivo* в течение 48 часов с использованием различных стимуляторов, например, ЦМВ-специфических иммунодоминантных эпитопных пептидов, ЦМВ-инфицированных дендритных клеток [102]. Дальнейшие результаты исследования получают с помощью проточной цитофлуориметрии.

В нескольких исследованиях было продемонстрировано, что этот метод эффективен для прогнозирования риска ЦМВ-инфекции или ЦМВ-болезни после трансплантации почек, легких, сердца, печени и тонкой кишки [67, 83, 89, 215].

1.6.3 Окрашивание посредством тетрамера пептид-МНС для определения цитомегаловирус-специфичных Т-клеток

Мультимерный комплекс пептид-МНС (пМНС) стал «золотым стандартом» для обнаружения и выделения антиген-специфичных Т-клеток.

T-клетки распознают чужеродные антигены, присутствующие на поверхности клеток, связанные с молекулами МНС. Распознавание происходит через $\alpha\beta$ T-клеточный рецептор (ТКР), который вместе с ко-рецептором CD4 или CD8 задействует пМНС для создания каскада внутриклеточной трансдукции, который приводит к активации T-клеток [64]. ТКР позволяет T-клеткам проверять протеом на наличие аномалий путем отбора проб антигенов, содержащихся в молекулах МНС класса I или II на поверхности клетки. Взаимодействие между ТКР и пептидом, представленным в МНС, является слабым и обычно длится всего несколько секунд. Мультимеризация растворимого комплекса пептид-МНС может значительно продлить период полужизни этого взаимодействия из-за эффекта авидности и, таким образом, может производить реагенты, которые стабильно прикрепляются к клеточной поверхности T-клеток, несущих родственный ТКР.

Разработка мультимеров комплекса пептид-МНС, конъюгированного с флуорохромом, позволила исследовать антигенспецифичные T-клетки, сделав возможным их визуализацию, подсчет, фенотипическую характеристику и изоляцию из образцов *ex vivo* [63, 250]. Флуоресцентно меченые белки в проточной цитометрии разделены на моноклональные антитела и мультимеры растворимого пептидного комплекса гистосовместимости (тетра-, пента- или декстрамеры) [63].

Существуют готовые к использованию тетрамеры МНС с необходимым пептидом, изготовленные на заказ мономеры, а также собственные лабораторно изготовленные тетрамеры. Включение 50 нМ дзатиниба, ингибитора протеинкиназы (ИТК) применяют для предотвращения подавления ТКР [138].

Для детекции T-клеток комплекс пМНС чаще всего соединяют с флуорохромом. Мультимеры пептид-МНС также можно использовать в сочетании с «коктейлем» антител против других белков клеточной поверхности. Это позволяет выполнять одномоментное окрашивание антиген-специфических T-клеток и сегрегацию в различные фенотипические популяции [176, 177].

Определение ЦМВ-специфичных CD8⁺ лимфоцитов с помощью метода окрашивания с тетрамерами оканчивается исследованием проб с помощью

проточной цитофлуориметрии, где проводится количественная оценка ЦМВ-специфичных клеток.

1.7 Методы профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции

Контроль за ЦМВ-инфекцией осуществляется посредством назначения профилактической, превентивной или этиотропной терапии. Основные подходы к профилактике и лечению посттрансплантационных осложнений принимаются рабочей группой на Европейской конференции по инфекциям при лейкемии (European Conference of infections in Leukaemia and infectious diseases (ECIL)) и рабочей группой EBMT (European Bone Marrow Transplantation) [143]. В настоящее время не существует «золотого стандарта» для определения пороговых значений вирусной нагрузки при мониторинге ЦМВ-инфекции и единого руководства по наилучшей тактике мониторинга и профилактики ЦМВ-инфекции. Кроме того, противовирусные препараты, используемые в профилактической и превентивной терапии, характеризуются высокой токсичностью.

Таким образом, разработка безопасных и эффективных противовирусных средств для профилактики ЦМВ-инфекции остается одной из главных целей в онкологии и гематологии.

1.7.1 Профилактика цитомегаловирусной инфекции

Профилактика ЦМВ-инфекции – это проведение мероприятий, направленных на предотвращение развития первичной ЦМВ-инфекции, ЦМВ-реактивации или рецидивирующей ЦМВ-инфекции.

Профилактическая терапия означает назначение противовирусных препаратов всем реципиентам алло-ТГСК, начиная со дня трансплантации или

начала предтрансплантационного кондиционирования до + 100 дня после трансплантации или дольше в случае длительной иммуносупрессии. Известно, что в случае, если профилактика проводилась до приживления трансплантата, показатели заболеваемости ЦМВ-инфекцией были значительно ниже, однако этот фактор не оказывал значительного влияния на показатели общей выживаемости. В случае назначения профилактической терапии после приживления, вероятность развития ЦМВ-болезни и смертности была значимо ниже [201, 252].

В качестве профилактической терапии применяют ацикловир, валацикловир, ганцикловир, валганцикловир, марибавир, бринцидофовир, летермовир и др. Клинические исследования, сравнивающие противовирусную профилактику с плацебо, продемонстрировали общую эффективность в снижении заболеваемости ЦМВ-инфекцией, ЦМВ-болезнью и снижении применения превентивной терапии примерно на 50% [91, 159].

1.7.2 Превентивная терапия цитомегаловирусной инфекции

Превентивная терапия (иногда называемая «превентивная профилактика») включает в себя назначение противовирусных препаратов при бессимптомной ЦМВ-инфекции [141].

Превентивная терапия включает регулярное ПЦР-исследование образцов крови и назначение противовирусных препаратов при обнаружении ДНК ЦМВ, что предотвращает развитие ЦМВ-болезни и может использоваться как отдельно, так и в сочетании с противовирусной профилактикой [114, 143]. Длительность превентивной терапии должна составлять не менее 2 недель и считается эффективной при наличии хотя бы одного отрицательного ПЦР-теста [141, 143]. Нарастание вирусной нагрузки в течение первых 2 недель терапии не требует смены терапии. Если спустя 2 недели превентивной терапии детектируется ДНК

ЦМВ, следует рассмотреть возможность более длительного приема противовирусных препаратов [143].

Пороговое значение концентрации вирусной нагрузки для старта превентивной терапии регулярно обсуждается на Европейской конференции по инфекциям при лейкемии (ЕСIL) и варьирует в разных центрах в зависимости от метода детекции ЦМВ-инфекции и оценки факторов риска у пациента.

1.7.3 Адоптивная иммунотерапия

В настоящее время доступно множество клинических исследований, посвященных влиянию трансфузии лимфоцитов донора (ТЛД) на реконституцию противовирусного иммунитета [65, 193]. Сама по себе ТЛД позволяет «перенести» противоопухолевый и противовирусный иммунитет от донора реципиенту, а также Т-клетки памяти, направленные на борьбу с широким спектром патогенов [162]. Несмотря на это, методика трансфузии неманипулированных лимфоцитов донора ограничена высоким риском развития РТПХ за счет трансфузии аллореактивных Т-клеток и низким количеством вирус-специфичных клеток [134, 136].

Одним из наиболее безопасных и потенциально эффективных методов профилактики и лечения ЦМВ-инфекции является трансфузия ЦМВ-специфичных Т-клеток. У пациентов с резистентной и рефрактерной ЦМВ-инфекцией после трансплантации данный метод также нашел свое применение и позволяет в отдельных случаях преодолеть резистентность / рефрактерность [40, 198, 199]. В работе G. Koehne и соавт. было показано, что после инфузии патоген-специфичных Т-клеток донора реципиенту клетки могут длительно циркулировать, вплоть до 2 лет [129].

Заготовка ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов (ЦМВ-ЦТЛ) может проводиться как с помощью культуральных методов *ex vivo* [164], так и с помощью прямой изоляции. Каждый трансплантационный центр применяет разные

протоколы заготовки ЦМВ-ЦТЛ как для профилактики, так и для лечения ЦМВ-инфекции [162].

Для адоптивной терапии в основном используют ЦМВ-специфичные Т-клеточные линии и клоны от донора стволовых клеток, но в некоторых исследованиях от другого донора или собственные клетки пациента, полученные до ТГСК [68, 88, 104, 135]. В настоящее время широко распространено получение ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов либо от донора гемопоэтических стволовых клеток, либо от «третьего» донора, имеющего общий гаплотип HLA в генотипировании с использованием технологии захвата цитокинов (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Германия) [77, 95].

Трансфузия Т-клеток может восстановить вирус-специфичный Т-клеточный иммунитет, и сообщалось об успешном переносе всего лишь 1×10^3 / кг ЦМВ-специфичных Т-клеток на кг. Трансфузия донорских ЦМВ-ЦТЛ безопасна и не оказывает влияние на развитие РТПХ [33].

Показано, что при терапевтическом введении ЦМВ-специфичных Т-клеток пациентам с рефрактерной ЦМВ-инфекцией значительно снижалась вирусная нагрузка [206]. Высокие дозы ГКС (более > 1 мг / кг) могут нарушать функцию цитотоксических Т-клеток и потенциально влиять на эффективность адоптивной Т-клеточной терапии, однако эта категория пациентов особенно подвержена ЦМВ-инфекции [79, 175, 206, 222].

Методика применения ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов ограничена высокой стоимостью, однако, может ускорить реконституцию иммунной системы у пациентов после алло-ТГСК, эффективно подавляя ЦМВ-репликацию, уменьшая при этом использование противовирусных препаратов и риски, связанные с побочными явлениями, поэтому метод трансфузии ЦМВ-специфичных Т-клеток может стать альтернативой противовирусным препаратам [119, 235].

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Дизайн исследования

В исследование было включено 107 пациентов с гемобластозами и неопухолевыми заболеваниями системы крови, которым была выполнена трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток за период с декабря 2018 года по август 2021 года. Анализ носил проспективный характер. Всем пациентам алло-ТГСК выполнялась в условиях отделения высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (заведующая отделением к.м.н. Кузьмина Л.А.). Цитометрический анализ проводили в лаборатории трансплантационной иммунологии (заведующий лабораторией к.б.н. Ефимов Г.А.). В отделе вирусологии (заведующий отделом д.м.н. Туполева Т.А.) проводили оценку репликации ЦМВ методом ПЦР и оценивали серологический статус ЦМВ-инфицирования реципиента и донора. Типирование доноров и реципиентов проводили в лаборатории тканевого типирования (заведующая лабораторией тканевого типирования, д.б.н. Хамаганова Е.Г).

Дизайн исследования отображен на рисунке 1.

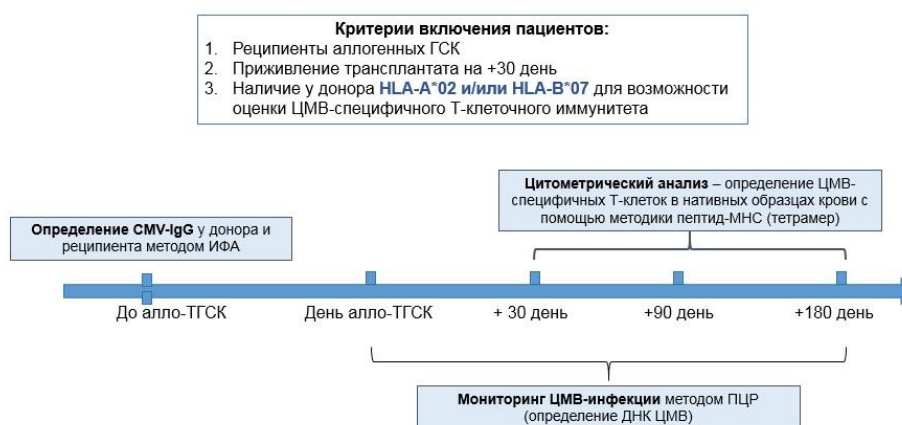


Рисунок 1 – Дизайн и критерии включения пациентов в исследование

2.2 Характеристика пациентов

Основным критерием выбора пациентов в исследуемые группы являлось возможность проведения ему оценки противовирусного иммунитета методом проточной цитометрии. Для этого ведущим критерием включения в исследование являлось наличие у донора по данным тканевого типирования варианта молекулы HLA-A*02 и/или HLA-B*07.

В наш анализ были включены пациенты с донорами, имеющие генотип:

1. HLA-A*02 (n = 81);
2. HLA-B*07 (n = 8);
3. Оба варианта – HLA-A*02 и HLA-B*07 (n = 18).

Пациенты включались в исследование строго при условии констатации приживления донорского кроветворения.

Все пациенты были обсуждены на комиссии по отбору на алло-ТГСК. Заключение о необходимости проведения алло-ТГСК проводилось на основании определения показаний к алло-ТГСК, наличия донора, оценки статуса заболевания и коморбидности, а также при отсутствии противопоказаний для выполнения алло-ТГСК. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение химиотерапии, алло-ТГСК.

Медиана возраста пациентов составила 36 (28–43) лет. У 48 пациентов был диагностирован острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), у 38 – острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), у 2 – хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), у 1 – хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), у 1 – хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), у 12 – миелодиспластический синдром (МДС), у 3 – лимфома, у 1 – первичный миелофиброз (ПМФ), у 1 – апластическая анемия (АА).

Более детальная характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика пациентов, включенных в исследование

Пол, n (%)	
Женский	61 (57 %)
Мужской	46 (43 %)
Возраст, медиана (МКР)	36 (28–43)
Диагноз, n (%)	
Апластическая анемия (АА)	1 (0,9 %)
Лимфома	3 (2,9 %)
Миелодиспластический синдром (МДС)	12 (11,2 %)
Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ)	38 (35,5 %)
Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ)	48 (44,9 %)
Первичный миелофиброз (ПМФ)	1 (0,9 %)
Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ)	1 (0,9 %)
Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ)	2 (1,9 %)
Хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ)	1 (0,9 %)

2.3 Серологический статус донора и реципиента

Всем пациентам и донорам на этапе обследования до планируемой алло-ТГСК проводилась оценка серологического статуса ЦМВ-инфицированности методом иммуноферментного анализа (ИФА).

В зависимости от результатов серологического исследования (определение антител класса G и M к цитомегаловирусу) все пары донор / реципиент (Д / Р) разделили в соответствии с ЦМВ-статусом (ЦМВ-инфицированностью).

Варианты ЦМВ-инфицированности Д / Р представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Серологический статус пары донор и реципиент до алло-ТГСК

Серологический статус пары Д / Р до алло-ТГСК, n (%)	
Д- / Р-	5 (4,6 %)
Д+ / Р-	2 (2 %)
Д- / Р+	19 (17,7 %)
Д+ / Р+	81 (75,7 %)

2.4 Предтрансплантационное кондиционирование

В нашем исследовании всем пациентам перед алло-ТГСК проводили предтрансплантационное кондиционирование. Миелоаблативные режимы (МАС) использовали у 16 (15%) пациентов, режимы пониженной интенсивности (RIC) – у 91 (85%) пациентов. Критериями выбора миелоаблативного режима кондиционирования являлись молодой возраст пациента и отсутствие сопутствующей патологии.

8 пациентам кондиционирование проводилось в режиме ВuСу (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)), 7 пациентам кондиционирование выполняли в режиме TreoThioteraFlu (треосульфан 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 случае выполнения алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора с TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией.

Остальным пациентам (n = 91) кондиционирование проводили в режиме пониженной интенсивности. Так, наиболее часто используемый «классический» режим кондиционирования FluBu (флударабин 30 мг/м²/сут (суммарно 180 мг/м²), бусульфан 4 мг/кг/сут (суммарно 8 мг/кг)) проводили 72 пациентам. Учитывая нейрорлейкемию на момент госпитализации в отделение 1 пациенту кондиционирование проводили по схеме FluBuThiotera (флударабин 30 мг/м²/сут

(суммарно 180 мг/м²), бусульфан 4 мг/кг/сут (суммарно 8 мг/кг), тиотепа 5 мг/кг/сут (суммарно 10 мг/кг)) с включением тиотепы.

9 пациентам проводили кондиционирование по схеме TreMelFlu (треосульфан 14 г/м²/сут в -5, -4, -3 сут (суммарно 42 г/м²), мелфалан 70 мг/м²/сут в -3, -2 сут (суммарно 140 мг/м²), флударабин 30 мг/м²/сут с -6 по -2 сут (суммарно 180 мг/м²)) преимущественно пациентам перед гапло-ТГСК с TCRαβ-/CD19-деплецией. 1 пациенту перед гапло-ТГСК с TCRαβ-/CD19-деплецией кондиционирование проводили по схеме FluTreThiotepa (флударабин 30 мг/м²/сут с -6 по -2 сут (суммарно 180 мг/м²), треосульфан 14 г/м²/сут в -5, -4, -3 сут (суммарно 42 г/м²), тиотепа 5 мг/кг/сут (суммарно 10 мг/кг)).

Пациентам после второй алло-ТГСК (n = 4) от альтернативного донора кондиционирование проводили по схеме FluMel (флударабин 30 мг/м²/сут с -4, -3, -2 сут, мелфалан 70 мг/м²/сут в -3, -2 сут (суммарно 140 мг/м²)).

3 пациентам в связи с сопутствующей патологией (терапия инотузумабом, длительный агранулоцитоз, инфекционные осложнения до планируемой алло-ТГСК) и высоким риском развития посттрансплантационных осложнений кондиционирование проводили по схеме FluTre (флударабин 30 мг/м²/сут с -6 по -2 сут (суммарно 180 мг/м²), треосульфан 14 г/м²/сут в -5, -4, -3 сут (суммарно 42 г/м²)).

1 пациенту с диагнозом апластическая анемия алло-ТГСК проводили от родственного совместимого донора и кондиционирование проводили по схеме FluCy с последующим применением АТГ (флударабин 25 мг/м²/сут с -5 по -2 сут (суммарно 100 мг/м²), циклофосфамид 25 мг/кг/сут с -5 по -2 сут (суммарно 100 мг/кг), АТГ 25 мг/кг/сут с -4 по -1 сут (суммарно 100 мг/сут)).

2.5 Источник гемопоэтических стволовых клеток

В качестве источника трансплантата использовали костный мозг (КМ) у 21 пациента, стволовые клетки крови (СКК) у 86 пациентов.

2.6 Вид трансплантации в зависимости от типа донора

Всем пациентам после окончания предтрансплантационного кондиционирования в день 0 выполняли трансфузию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Трансплантация аллогенных гемопоэтических клеток от родственного совместимого донора выполнена 29 пациентам, от неродственного совместимого донора – 26, от неродственного частично совместимого – 13, от родственного гаплоидентичного донора – 39 пациентам.

Выбор варианта предтрансплантационного кондиционирования, источника трансплантата, вида алло-ТГСК и детальные характеристики пациентов представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика пациентов в зависимости от варианта предтрансплантационного кондиционирования, источника трансплантата, вида трансплантации

Предтрансплантационное кондиционирование	
MAC	16 (15 %)
RIC	91 (85 %)
Источник гемопоэтических стволовых клеток	
КМ	21 (19,6 %)
СКК	86 (80,4 %)
Тип донора	
Родственный совместимый	29 (27,1 %)
Неродственный совместимый	26 (24,3 %)
Неродственный частично совместимый	13 (12,1 %)
Родственный гаплоидентичный	39 (36,4 %)

2.7 Профилактика реакции «трансплантат против хозяина»

В качестве профилактики развития реакции «трансплантат против хозяина» все пациенты получали иммуносупрессивную терапию (ИСТ). Выбор схемы ИСТ проводился на основании разнообразия диагнозов у исследуемых пациентов, статуса заболевания на момент планируемой алло-ТГСК, вида алло-ТГСК и типа донора, соматического статуса пациента.

Пациентам после миелоаблативных режимов кондиционирования (n = 16) иммуносупрессивную терапию проводили исходя из типа донора, вида алло-ТГСК, соматического статуса пациента на момент проведения ТГСК. Среди них профилактику РТПХ проводили:

1. В случае выполнения алло-ТГСК от неродственного совместимого донора по схеме АТГ+ЦСА+МТХ+ММФ (антитимоцитарный глобулин 40 мг/кг (по 10 мг/кг в -4, -3, -2, -1 сутки), циклоспорин А 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут, микофенолата мофетил 2 г/сут) 3 пациентам;

2. В случае выполнения алло-ТГСК от неродственного совместимого донора, учитывая тяжелые инфекционные осложнения на момент госпитализации в стационар, ИСТ проводили по схеме ЦФ+ЦСА+ММФ (циклофосфамид 50 мг/кг в +3, +4 сут, циклоспорин А 3 мг/кг/сут с -1 дня, микофенолата мофетил 3 г/сут) 1 пациенту;

3. После алло-ТГСК от родственного совместимого донора в объеме АТГ+ЦСА+МТХ (антитимоцитарный глобулин 40 мг/кг (по 10 мг/кг в -4, -3, -2, -1 сутки), циклоспорин А 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут) 1 пациенту и по схеме ЦСА+МТХ (циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут) 6 пациентам;

4. При выполнении алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора с TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией ИСТ назначали 5 пациентам по схеме

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.

Пациентам после режимов кондиционирования пониженной интенсивности применяли следующие режимы профилактики РТПХ (n=91) :

1. АТГ+Такролимус+МТХ+ММФ (АТГ 40 мг/кг (по 10 мг/кг в -4, -3, -2, -1 сутки), такролимус 0,3 мг/кг с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут, микофенолата мофетил 2 г/сут) 1 пациенту после алло-ТГСК от родственного совместимого донора;

2. АТГ+ЦФ+ЦСА+ММФ (АТГ 40 мг/кг (по 10 мг/кг в -4, -3, -2, -1 сутки), циклофосфамид 50 мг/кг/сут в +3, +4 сут, циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, микофенолата мофетил 3 г/сут) 10 пациентам после алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора и неродственного совместимого и частично совместимого донора;

3. АТГ+ЦСА+МТХ+ММФ (АТГ 40 мг/кг (по 10 мг/кг в -4, -3, -2, -1 сутки), циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут, микофенолата мофетил 3 г/сут), где дозировка ММФ составляла 3 г/сут для пациентов (n = 8) после алло-ТГСК от неродственного совместимого донора, и когда доза ММФ составила 2 г/сут для пациентов (n = 10) после алло-ТГСК от родственного совместимого донора;

4. АТГ+ЦСА+МТХ (АТГ 40 мг/кг (по 10 мг/кг в -4, -3, -2, -1 сутки), циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут) проводили 1 пациенту после алло-ТГСК от родственного совместимого донора;

5. Тимоглобулин+ ЦСА+МТХ+ММФ (тимоглобулин 2,5 мг/кг/сут с -3 по -1 сут (суммарно 7,5 мг/кг), циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут, микофенолата мофетил 3 г/сут) применяли для 1 пациента после алло-ТГСК от неродственного совместимого донора;

6. Протокол TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеции (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) проводили 8 пациентам;

7. ЦФ+ЦСА+ММФ (циклофосфамид 50 мг/кг/сут в +3, +4 сут, циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, микофенолата мофетил 30–45 мг/кг/сут) проводили 49 пациентам. Эту схему начали применять наиболее часто после применения АТГ как для пациентов после алло-ТГСК от неродственных совместимых, родственных совместимых и родственных гаплоидентичных доноров. В дальнейшем пересматривали редукцию применяемой дозы ЦФ и 1 пациенту проводили иммуносупрессию по такой же схеме ЦФ+ЦСА+ММФ, однако доза ЦФ составила 25 мг/кг/сут в +3, +4 сут;

8. Профилактика только ЦФ 50 мг/кг/сут в +3, +4 сут проводили 1 пациенту в связи с тяжелыми инфекционными осложнениями до алло-ТГСК и высоким риском посттрансплантационных осложнений;

9. ЦСА+МТХ (циклоспорин 3 мг/кг/сут с -1 дня, метотрексат 15 мг/м²/сут в +1 сут, 10 мг/м²/сут в +3, +6, +11 сут) проводили 1 пациенту с диагнозом апластическая анемия.

2.8 Определение цитомегаловирусной инфекции и цитомегаловирусной болезни

В нашей работе мы придерживались основных понятий и определений ЦМВ-инфекции, разработанные группой «The CMV Drug Development Forum» для реципиентов трансплантированных солидных органов и гемопоэтических стволовых клеток. Так, ЦМВ-инфекция (ЦМВ-репликация) – это изоляция вируса и/или детекция вирусных белков (антигена) и / или ДНК цитомегаловируса в любой биологической жидкости или ткани организма независимо от наличия или отсутствия любых клинических проявлений. ЦМВ-болезнь – это ЦМВ-инфекция, протекающая с поражением органов-мишеней, требующая молекулярно-

генетического, культурального, гистологического и (или) иммуногистохимического подтверждения поражения цитомегаловирусом органа-мишени [51, 143].

2.9 Объем исследования

Всем пациентам в исследуемой группе и их донорам выполняли серологическое исследование крови методом иммуноферментного анализа с определением антител к белкам цитомегаловируса класса М и G (anti-CMV-IgM и анти-CMV-IgG). У пациентов с гемобластозами и неопухолевыми заболеваниями системы крови проводили оценку реконституции ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета на сроках +30, +90, +180 сут после алло-ТГСК.

2.10 Лабораторная пробоподготовка и цитометрический анализ

В качестве методики для определения ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-клеток использовали собственные лабораторно изготовленные тетрамеры МНС с необходимым иммунодоминантным пептидом белка ЦМВ pp65 (пептид NLVPMVATV для HLA-A*02; пептиды TPRVTGGGAM и RPHERNGFTVL для HLA-B*07), которые соединяли с флюорохромом и «коктейлем» из антител CD3 (AlexaFluor 700 (Sony Biotechnology, США)), CD8 (FITC (Sony Biotechnology, США)) и CD45 (PerCP (BD Bioscience, США)). Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

2.10.1 Взятие материала у донора и пациента

У пациентов исследовали периферическую кровь (1 мл) в контрольные сроки +30, +90, +180 сут после алло-ТГСК.

2.10.2 Лабораторная пробоподготовка

Для проведения цитометрического анализа предварительно выполняли лабораторную пробоподготовку материала реципиента.

2.10.2.1 Лизирование эритроцитов

Первым этапом проводили лизирование эритроцитов в образцах периферической крови реципиента. 1 мл образца добавляли в 10 мл лизирующего эритроциты буфер BD Pharm Lyse™ (BD Biosciences, США), (100 ml, 10X conc.), предварительно разведенный в 10 раз (5 мл буфера разводили в Milli-Q Lab Water Solution) и инкубировали в градуированных круглодонных пробирках 12 x 75 мм в течение 10 минут при комнатной температуре без доступа света. Затем пробирки центрифугировали при 200 g в центрифуге LSM3000 (Biosan, Латвия) в течение 5 минут, удаляли надосадок, а осадок ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS).

2.10.2.2 Подсчет клеточности образцов

Для лабораторной пробоподготовки использовали 1–5 млн клеток. Для этого из круглодонных пробирок отбирали 10 мкл клеточной суспензии, добавляли 10 мкл 0,4% трипан синий (Trypan Blue Stain (Sigma-Aldrich, США)) и вносили в эппендорф, вортексировали и затем 10 мкл общей суспензии наносили пипеткой в одноразовые слайды. Слайды вставляли в счетчик клеток Luna II™ (Logos Biosystems, Корея), где производился подсчет клеток в центральной части камеры в течение 30 секунд. После получали результаты общего количества клеток и процент жизнеспособности клеток. Затем по пропорции определяли общее количество клеток в общем объеме клеточных образцов периферической крови /

концентрата ГСК / костного мозга донора и реципиента и отбирали от 1 до 5 млн клеток для последующего анализа.

2.10.2.3 Инкубация образцов с дазатинибом

Дальнейшую пробоподготовку проводили в цилиндрических цитометрических пробирках 16 x 100 мм 10 мл. Для каждого образца периферической крови / концентрата ГСК / костного мозга донора и реципиента использовали пробирку для контрольного исследования (CTRL) и пробирку для окрашивания исследуемого мономера (NLV, TPR, RPH), в каждую из которых вносили по 1-5 млн клеток. К клеточному осадку в каждой пробирке добавляли 50 мкл дазатиниба в концентрации 50 нМ и 950 мкл фосфатно-солевого буфера (PBS) с целью предотвращения интернализации Т-клеточного рецептора во время окрашивания, вортексировали и инкубировали 1 час при температуре 37 С в воздушной атмосфере с содержанием CO² 5%. После инкубации клетки промывали избытком фосфатно-солевого буфера с добавлением 0.5% бычьего сывороточного альбумина и 1 mM ЭДТА (PBS + 0,5% BSA + 2mM EDTA), центрифугировали при 200 g в центрифуге LSM3000 (Biosan, Латвия) в течение 5 минут, удаляли надосадок, осадок ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS).

2.10.2.4 Сборка тетрамера

Параллельно с инкубацией клеток с дазатинибом проводили сборку тетрамера.

Для сборки тетрамера использовали:

1. Комплекс стрептавидин-фикоэритрин Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate (SAPE) 1 mg/ml (Thermo, США);
2. Раствор IS 10X buffer (десятикратный IS, полученный путем разведения однократного рабочего раствора в 10 раз деионизированной водой);

3. Мономеры МНС класса I, связанные с одним из иммунодоминантных эпитопов вирусного белка pp65: мономер NLVPMVATV (NLV-HLA-A*02:01 Student), TPRVTGGGAM (TPR-HLA-B*07:02), RPHERNGFTVL (RPH-HLA-B*07:02).

Биотинилированные мономеры получали как описано D. Garboczi и соавт., [84] G. Altman и соавт. [18] с изменениями. Тяжелые (HLA-A*02:01 или HLA-B*07:02 с аминокислотной последовательностью для биотинилирования) и легкие (бета-2-микроглобулин) цепи экспрессировали в клетках *Escherichia coli* штамма BL21(DE3) pLysS в форме телец включения. Бактериальные клетки разрушали ультразвуком в буфере (50 mM трис-HCl, pH 8,0, 25% сахароза, 1 mM ЭДТА). Добавляли равный объем детергентногобуфера (20 mM трис-HCl, pH 7,5, 0,2 M NaCl, 2 mM ЭДТА, 1% дезоксихолат натрия, 1% NP-40) и замораживали при -80°C на 1 час. Лизат размораживали и осаждали тельца включения путем центрифугирования при 15000g в течение 20 минут. Осадок промывали три раза буфером (50 mM трис-HCl, pH 8,0, 0,1 M NaCl, 10 mM ЭДТА), содержащим 0,1% Тритон X-100, а затем три раза тем же буфером без Тритона X-100. Тельца включения растворяли в денатурирующем буфере (50 mM трис-HCl, pH 8,0, 8 M мочевины) до конечной концентрации 200-500 мкМ. Реакцию рефолдинга *in vitro* проводили в 50 мл буфера для рефолдинга (100 mM трис-HCl, 400 mM аргинин, 5 mM восстановленный глутатион, 0,5 mM окисленный глутатион, 2 mM ЭДТА, ингибиторы протеаз, 1 mM PMSF, pH = 8,0). Пептиды (пептид NLVPMVATV для HLA-A*02; пептиды TPRVTGGGAM и RPHERNGFTVL для HLA-B*07), легкую и тяжелую цепь добавляли в буфер для рефолдинга в конечном молярном соотношении на 3-й день 30 : 4 : 3 (30 мкМ пептида, 4 мкМ легкой цепи, 3 мкМ тяжелой цепи). Легкую и тяжелые цепи добавляли в течение двух и трех последовательных дней в концентрациях 2 мкМ и 1 мкМ, соответственно. Реакцию рефолдинга проводили при +8°C в течение 5–7 дней. По окончании удаляли агрегаты белков путем центрифугирования при 15000g в течение 15 минут. Реакционный раствор концентрировали на концентраторе Amicon Ultra 15 (с порогом отсечения 30000 Да) до конечного объема 4 мл. Ренатурированные

комплексы очищали на хроматографической колонке (длина 60 см, толщина 1,6 см) с носителем Superdex 75 pg, в качестве подвижной фазы использовали буфер 20 mM трис-HCl, 150 mM NaCl, pH 8,0. После концентрирования (Amicon Ultra 15 с порогом отсечения 30000 Да) комплексы биотинилировали полученной в лаборатории биотинлигазой (20 mM трис-HCl, 150 mM NaCl, 40 mM АТФ, 0,4 mM биотин, 6,5 mM MgCl₂, биотинлигаза 25 мкг/мл, ингибиторы протеаз) при 30°C в течение 1 часа или при 8°C в течение ночи. Биотинилированные комплексы очищали на хроматографической колонке (длина 30 см, толщина 1 см) с носителем Superdex 75 pg, в качестве подвижной фазы использовали буфер 20 mM трис-HCl, 150 mM NaCl, pH 8,0. Биотинилированные комплексы концентрировали (Amicon Ultra 15 с порогом отсечения 30000 Да) до конечной концентрации 0,4 – 1,0 мг / мл. Добавляли (конечные концентрации): 20% глицерин, 0,1% азид натрия, 0,1 mM ЭДТА и ингибиторы протеаз. Биотинилированные мономеры делили на аликвоты, замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C. Концентрации белков определяли по специфическому поглощению A_{0,1%} 280 = 2,36 и 1,68 для тяжелой и легкой цепей, соответственно (вычислены в программе SnapGene® Viewer по аминокислотной последовательности). Плазмиды, кодирующие легкую и тяжелые цепи, были предоставлены Ton Schumacher (The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, The Netherlands).

Сборку тетрамера проводили в эппендорфах, объем суспензии для сборки довели до 10 мкл.

Комбинации реагентов подбирались исходя из концентрации конкретной партии мономеров в зависимости от степени биотилирования. Оптимальную комбинацию реагентов подбирали экспериментально. Сборку тетрамеров проводили строго отдельно в эппендорфах. Каждый эппендорф вортиксировали и инкубировали в течение 45 минут на льду в темноте. В таблице 4 указан один из возможных вариантов сборки тетрамера.

Таблица 4 – Схема сборки тетрамера и контрольной пробы

	SAPE	NLV	TPR	RPH	IS 10X buffer
Контрольная пробирка (CTRL)	3 мкл	–	–	–	7 мкл
Тетрамер	3 мкл	200 ng NLV	300 ng TPR	200 ng RPH	довести до 10 мкл суммарно

2.10.2.5 Инкубация с тетрамером

После инкубации образцов периферической с дазатинибом клетки промывали избытком фосфатно-солевого буфера с добавлением 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 1 mM ЭДТА (PBS + 0,5% BSA + 2mM EDTA), центрифугировали при 200 g в центрифуге LSM3000 (Biosan, Латвия) в течение 5 минут, удаляли надосадов, осадок ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS). К клеточному осадку в каждую цитометрическую пробирку добавляли 20 мкл IS буфера, затем собранный тетрамер в объеме 10 мкл, вортиксовали и повторно инкубировали в течение 45 минут при температуре 37 C.

2.10.2.6 Окрашивание поверхностных маркеров

После инкубации образцов периферической крови с тетрамером клетки с целью отмыть клетки от несвязавшихся тетрамерных комплексов клетки промывали избытком фосфатно-солевого буфера с добавлением 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 1 mM ЭДТА (PBS + 0,5% BSA + 2mM EDTA), центрифугировали при 200 g в центрифуге LSM3000 в течение 5 минут, удаляли надосадов, осадок декантировали. Далее осадок в каждой пробирке ресуспендировали в 1 мл PBS, добавляли 0,1 uL AF750™ Ester (Thermo, США) (0,11

mg/1 ml) в каждый образец и инкубировали 15 мин в темноте при комнатной температуре. После инкубации клетки промывали избытком фосфатно-солевого буфера с добавлением 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 1 mM ЭДТА (PBS + 0,5% BSA + 2mM EDTA), центрифугировали при 200 g в центрифуге LSM3000 (Biosan, Латвия) в течение 5 минут, удаляли надосады, осадок ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS).

Предварительно собирали «коктейль» из моноклональных антител: CD3-AF700 (Sony Biotechnology, США), CD8-FITC (Sony Biotechnology, США), CD45-PerCP-Cy5.5 (BD Bioscience, США), который разводили буфером (PBS + 0,5% BSA + 2mM EDTA). Концентрация и объем антител и буфера подбирали экспериментально (то есть на каждые 1–5 млн клеток необходимо 50 мкл «коктейля»). Используемые моноклональные антитела указаны в таблице 5.

Таблица 5 – Моноклональные антитела, используемые для «коктейля»

Флюорохром	Антигенная специфичность
AlexaFluor 700 (Sony Biotechnology, США)	CD3
FITC (Sony Biotechnology, США)	CD8
PerCP (BD Bioscience, США)	CD45

К клеточному осадку добавляли 50 мкл «коктейля» из моноклональных антител, вортексировали и инкубировали 15 мин в темноте при комнатной температуре. После инкубации клетки вновь промывали избытком фосфатно-солевого буфера с добавлением 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 1 mM ЭДТА (PBS + 0,5% BSA + 2mM EDTA), центрифугировали при 200 g в центрифуге LSM3000 (Biosan, Латвия) в течение 5 минут, удаляли надосады, осадок декантировали. После ресуспендирования клеток в финальном объеме фосфатного-буфера приступали к цитометрической части анализа.

2.10.3 Цитометрический анализ. Многоцветная проточная цитометрия

Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США). Обработку файлов цитометрического анализа проводили с помощью программного пакета для анализа цитометрических данных FlowJo™ v10.8 (BD Bioscience, США). Стратегия гейтирования исследуемой популяции Т-лимфоцитов представлена на рисунке 2.

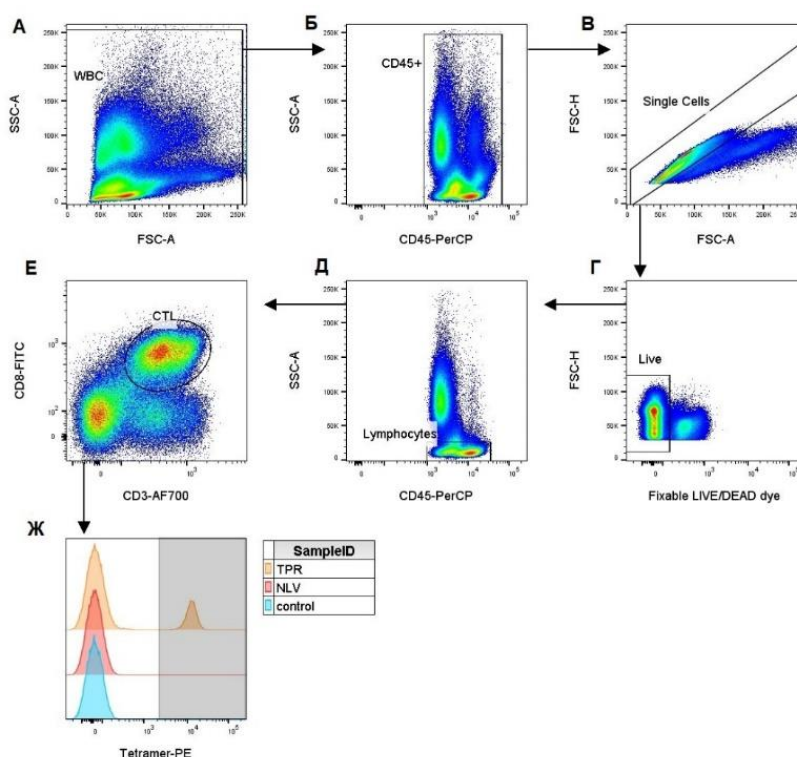


Рисунок 2 – Стратегия гейтирования определения ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов образце периферической крови. А – определение общего количества событий, Б – определение CD45+ клеток, В – определение одиночных клеток, Г – определение популяции жизнеспособных клеток, Д – выделение популяции лимфоцитов, Е – выделение популяции CD3+ CD8+ клеток, Ж – выделение ЦМВ-специфичных CD8+ клеток

Для анализа использовали количество событий в популяциях CD45+, CD3+CD8+, CD8+CMV+. Определение положительной по тетрамеру популяции

делали на основании анализа контрольного образца, в который не добавляли собранные тетрамеры.

2.10.4 Количественная оценка цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов

В день взятия крови из вены пациентам и донорам на гематологическом анализаторе Sysmex X-2100 (Sysmex, Япония) также выполняли общий анализ крови для определения количества лейкоцитов кл/мкл. В последующем для пациентов этот показатель использовался для двухплатформенного метода для подсчета абсолютного количества ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-клеток на +30, +90, +180 сут после алло-ТГСК, а для доноров для оценки абсолютного количества ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-клеток в крови, в трансплантате. Общее число лейкоцитов оценивалось на гематологическом анализаторе Sysmex X-2100 – первая платформа, затем, окрашенные специфическими антителами, образцы анализировались на проточном цитометре BD FACS Canto II – вторая платформа. Абсолютный подсчет ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-клеток проводился по формулам (1–3), представленным в таблице 6.

Таблица 6 – Определение количества ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов по формуле двухплатформенным методом

Для HLA-A*02:	(1)
$\frac{(CD8+NLV+ \text{ события}) * \text{общее число лейкоцитов, кл/мкл}}{\text{Все CD45+ события}}$	
Для HLA-B*07:	(2)
$\frac{((CD8+TPR+ \text{ события}) + (CD8+RPH+ \text{ события})) * \text{общее число лейкоцитов, кл/мкл}}{\text{Все CD45+ события}}$	
Для HLA-A*02, -B*07:	(3)
$\frac{((CD8+NLV+ \text{ события}) + (CD8+TPR+ \text{ события}) + (CD8+RPH+ \text{ события})) * \text{общее число лейкоцитов, кл/мкл}}{\text{Все CD45+ события}}$	

2.11 Статистический анализ

Статистический анализ данных проводился с использованием статистического пакета R 4.1 (США), а также оболочки RStudio. 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 сопряженности использовался критерий хи-квадрат, для таблиц 2 x 2 применялся точный тест Фишера. Для демонстрации динамики был использован линейный график, на котором отражены медианы групп. Анализ вероятности развития ЦМВ-инфекции проводили с использованием метода Каплана-Мейера.

Время развития ЦМВ инфекции рассчитывали от даты алло-ТГСК до даты установки диагноза ЦМВ-инфекция или смерти от любых причин. В случае цензурирования точкой цензурирования считали дату последнего контакта с пациентом. Сравнение между группами выполняли при помощи лог-ранк теста. Для оценки влияния отдельных факторов на вероятность развития ЦМВ-инфекции была использована регрессионная модель Кокса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Глава 3. Результаты исследования

3.1 Клинические результаты исследования

Основным клиническим критерием включения пациентов в исследование являлась констатация приживления трансплантата с определением донорского химеризма на сроке +30 день после алло-ТГСК. Все пациенты, включенные в исследование (n = 107), соответствовали этому критерию.

Критериями исключения пациентов из исследования являлись рецидив основного заболевания и смерть пациента. Так, рецидив основного заболевания наблюдали у 23 пациентов (21,5%). На разных сроках наблюдения и проведения анализа смерть наступила у 35 пациентов (32,7%). Анализ данных этих пациентов проводился в те сроки (+30, +90 сутки после алло-ТГСК), когда пациенты находились в ремиссии основного заболевания и живы.

3.2 Общая частота развития цитомегаловирусной инфекции и цитомегаловирусной болезни

Развитие ЦМВ-инфекции для пациентов, включенных в исследование (n = 107), как демонстрирует рисунок 3, отмечалось в большей степени на ранних сроках после алло-ТГСК и составило 71,4%. Медиана развития ЦМВ-инфекции – 49 дней.

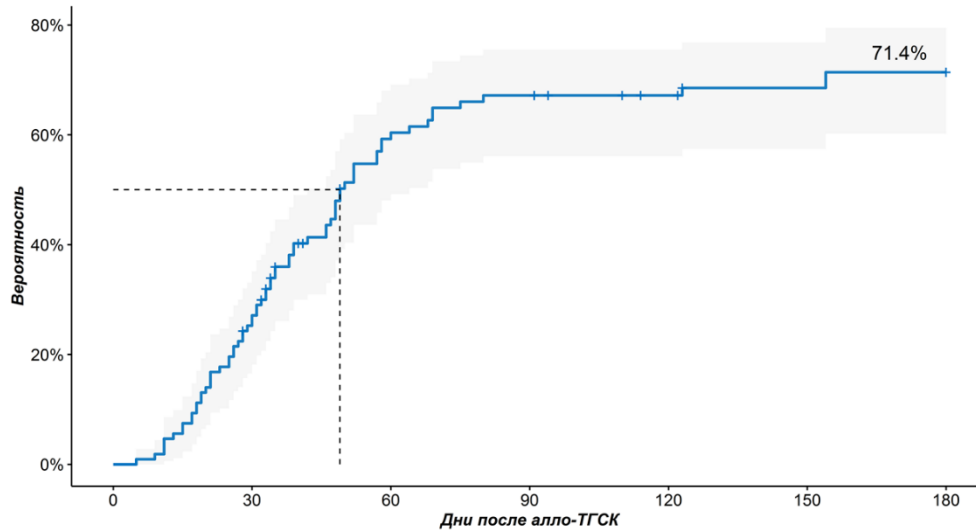


Рисунок 3 – Вероятность развития ЦМВ-инфекции у пациентов после алло-ТГСК в течение +180 дней после трансплантации

Также у пациентов мы проанализировали вероятность развития ЦМВ-болезни. Как указано на рисунке 4, у пациентов за весь период наблюдения отмечали 137 эпизодов ЦМВ-инфекции, из них 28 эпизодов (20,4%) рассматривали как подозрение на ЦМВ-болезнь. Биопсию и / или выполнение исследования бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) выполняли в 16 случаях (57,1%), и из них в 8 случаях (50%) была подтверждена ЦМВ-болезнь согласно международным критериям.

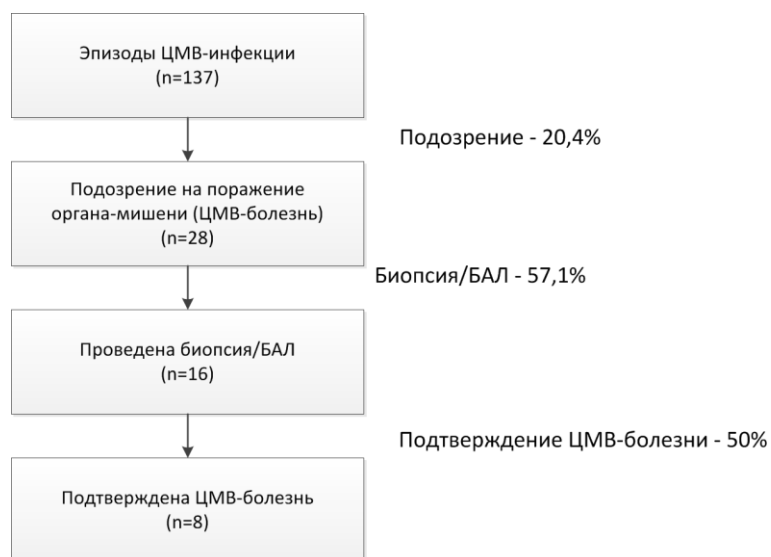


Рисунок 4 – Вероятность развития ЦМВ-болезни

Таким образом, по нашим данным вероятность ЦМВ-болезни составила 4,5% (рисунок 5). Однако, принимая во внимание небольшое число выполненных биопсий / БАЛ, реальную долю ЦМВ-болезни у пациентов после алло-ТГСК отобразить не удастся.

Для последующего анализа мы не рассчитывали влияние различных факторов на вероятность развития ЦМВ-болезни.

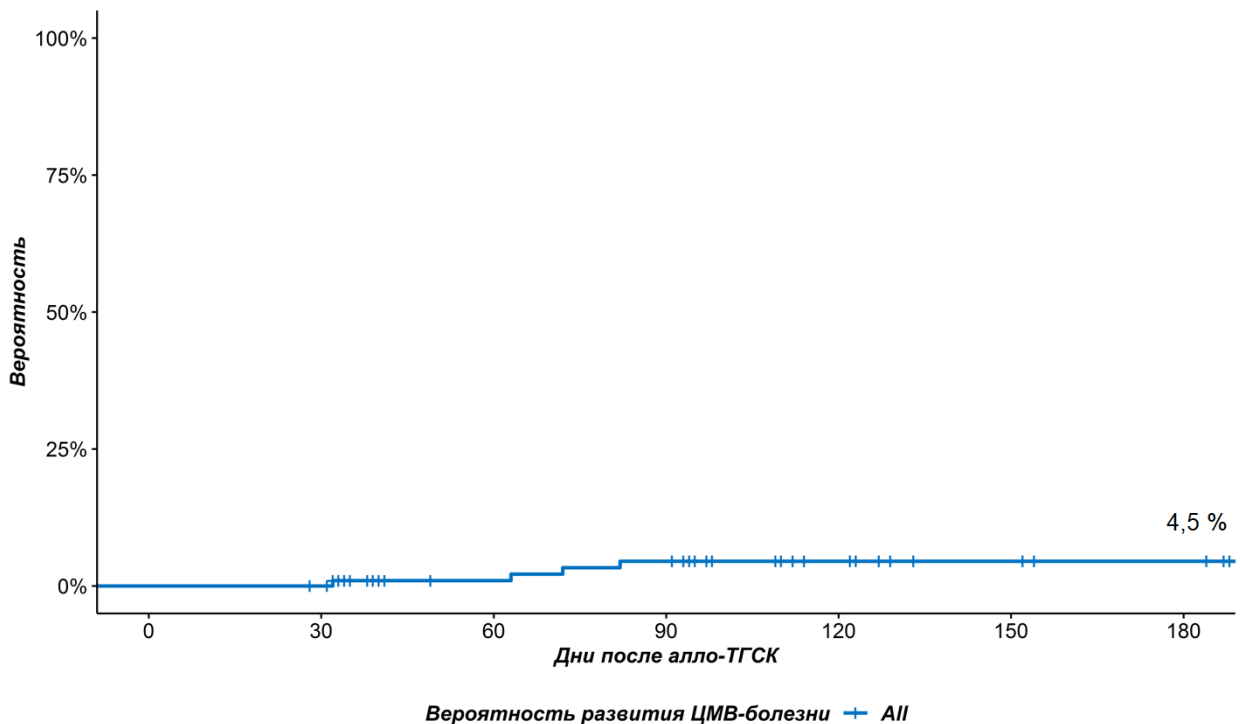


Рисунок 5 – Вероятность развития ЦМВ-болезни у пациентов после алло-ТГСК в течение +180 дней после трансплантации

Таким образом, расширение применения диагностических процедур для подтверждения ЦМВ-болезни в клиническую практику поможет идентифицировать большее число доказанных случаев ЦМВ-болезни.

3.3 Влияние варианта молекулы HLA-A*02, HLA-B*07 на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

На основании различий в молекуле HLA, вовлеченных в развитие ответа на ЦМВ-инфекцию, были выделены три группы пациентов: HLA-A*02 (n = 81), HLA-B*07 (n = 8), HLA-A*02 / HLA-B*07 (n = 18). Мы оценили количество ЦМВ-специфичных Т-клеток в течение 180 дней после алло-ТГСК в зависимости от различий в молекуле HLA.

Как иллюстрирует рисунок 6, различия не были статистически достоверными. Было показано, что количество вирус-специфичных клеток при вариантах HLA-A*02 и HLA-A*02 / HLA-B*07 примерно сопоставимо на всех исследуемых сроках после алло-ТГСК. В случае наличия HLA-B*07 и исследования иммунного ответа на иммунодоминантные пептиды как на TPR, так и на TPR+RPH, количество ЦМВ-специфичных Т-клеток было значимо ниже на сроках +30, +90 сут после алло-ТГСК.

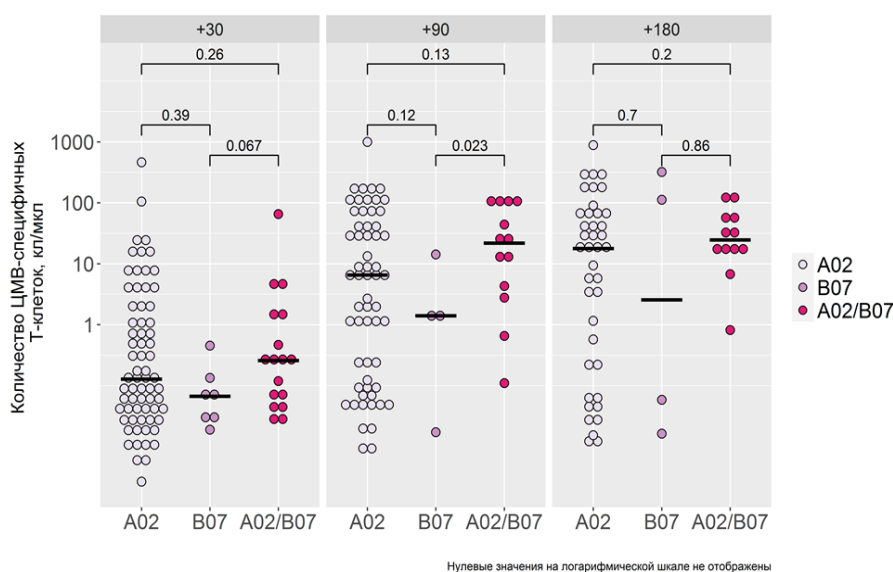


Рисунок 6 – Количество ЦМВ-специфичных Т-клеток (клеток/микролитре) на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости различий в HLA-типировании

Далее мы оценили влияние варианта молекулы HLA на вероятность развития ЦМВ-инфекции (рисунок 7).

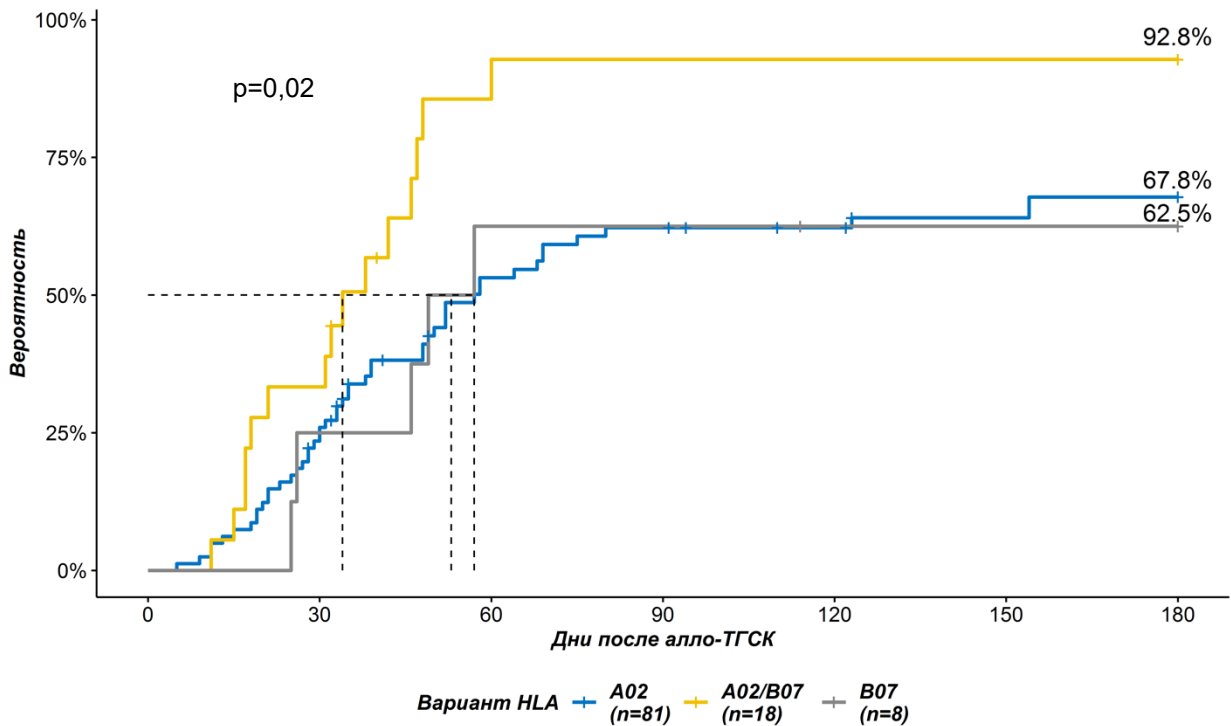


Рисунок 7 – Влияние варианта молекулы HLA на вероятность развития ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации

Как показывает график, вероятность ЦМВ-инфекции выше в группе с HLA-A*02/B*07 (92,8%, $p = 0,02$), что, предположительно, обусловлено тем, что такое сочетание аллелей реже встречается в популяции (относится к низкочастотным гаплотипам), что в свою очередь может быть связано с эволюционным «давлением», которое оказывал вирус (известно, что пациенты с низкочастотными гаплотипами более подвержены ЦМВ-инфекции нежели пациенты с часто встречаемыми).

Таким образом, восстановление ЦМВ-специфичного иммунитета не ассоциировано с различиями в молекуле HLA, и оценка ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета может проводиться одинаково для пациентов с любым из вариантов молекул HLA. Частота ЦМВ-инфекции в случае варианта HLA-A*02/B*07 достоверно выше ($p = 0,02$).

3.4 Влияние диагноза основного заболевания на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Мы проанализировали количество ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 дни после алло-ТГСК в зависимости от диагноза основного заболевания. Как видно из таблицы 7, при количественной оценке ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов на сроке +30, +90, 180 день алло-ТГСК абсолютное количество ЦМВ ЦТЛ при всех вариантах диагнозов было сопоставимо (для +30 дня – $p = 0,22$, для +90 дня – $p = 0,074$, для +180 дня – $p = 0,11$), что говорит о том, что предшествующее лечение или его отсутствие не сказывается на восстановлении ЦМВ-специфичного иммунитета после трансплантации.

Таблица 7 – Влияние диагноза основного заболевания на количественное восстановление ЦМВ-специфичных цитотоксических лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК

Характеристика	АА (n = 1)	Лимфома (n = 3)	МДС (n = 12)	ОЛЛ (n = 38)	ОМЛ (n = 48)	ПМФ (n = 1)	ХЛЛ (n = 1)	ХМЛ (n = 2)	ХММЛ (n = 1)	p
ЦМВ+ ЦТЛ на +30 сут алло- ТГСК (медиана, МКР)	0,258 (0,258– 0,258)	0,024 (0,012– 0,057)	0,394 (0,068– 2,073)	0,068 (0,020– 0,643)	0,075 (0,020– 0,599)	0,076 (0,076– 0,076)	1,025 (1,025– 1,025)	0,003 (0,001– 0,004)	1,548 (1,548– 1,548)	0,22
ЦМВ+ ЦТЛ на +90 сут алло- ТГСК (медиана, МКР)	11,416 (11,416– 11,416)	0,057 (0,029– 0,510)	14,256 (5,347– 36,981)	1,575 (0,052– 12,155)	1,356 (0,052– 7,517)	8,954 (0,108– 90,295)	0,041 (0,041– 0,041)	0,000 (0,000– 0,000)	–	0,074
ЦМВ+ ЦТЛ на +180 сут алло- ТГСК (медиана, МКР)	6,767 (6,767– 6,767)	5,704 (2,866– 11,332)	30,821 (18,308– 163,724)	7,628 (0,106– 37,329)	35,353 (0,695– 82,886)	–	0,010 (0,010– 0,010)	0,026 (0,013– 0,039)	–	0,11

Таким образом, статистически значимых различий между показателями Т-клеточного CD8+ ЦМВ-специфичного иммунитета у пациентов с разными диагнозами нами получено не было. Наше заключение подтверждается и литературными данными, где основной диагноз не упоминается как основной фактор риска развития ЦМВ-инфекции после трансплантации.

3.5 Влияние пола на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Следующим этапом в нашей работе мы оценили влияние пола пациента на восстановление ЦМВ-специфичного иммунитета (рисунок 8).

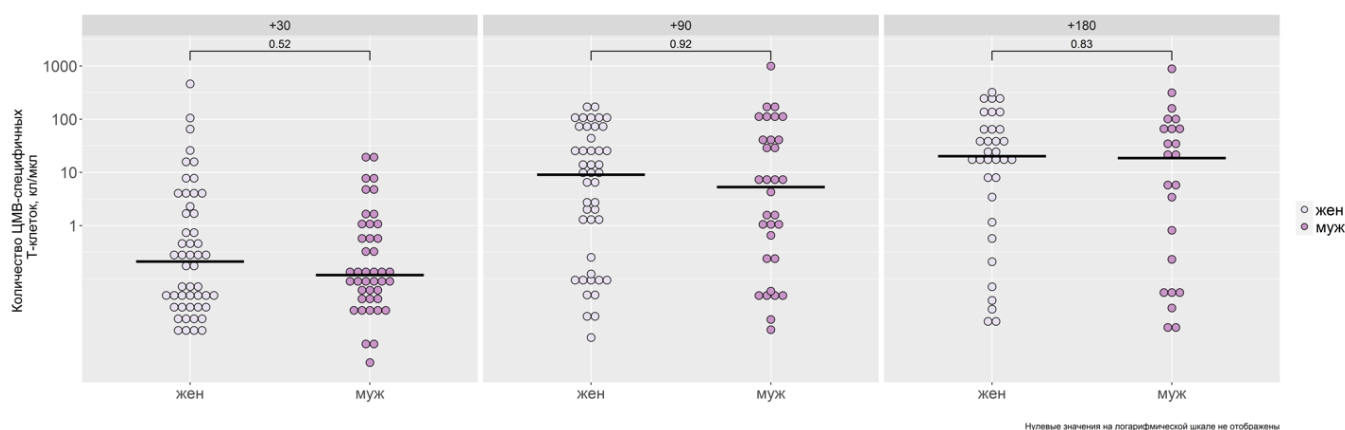


Рисунок 8 – Влияние пола пациента на реконституцию ЦМВ-ЦТЛ (к/л/мкл) после алло-ТГСК

Не наблюдалось связи между количеством ЦМВ-ЦТЛ (к/л/мкл) и полом реципиента на +30 день. Так, у мужчин ($n = 46$) на +30 день количество ЦМВ-специфичных Т-клеток составило 0,104 к/л/мкл (0,032–0,643), в то время как у женщин ($n = 61$) – 0,058 к/л/мкл (0,016–0,749), при этом достоверных различий получено не было ($p = 0,52$). Сопоставимые результаты наблюдались и на сроке +90 день алло-ТГСК, где абсолютное количество ЦМВ-ЦТЛ (к/л/мкл) у мужчин

составило 1,793 кл/мкл (0,058–40,822), у женщин 2,784 кл/мкл (0,082–29,129), что также не имеет статистически значимых различий ($p = 0,92$). На более поздних сроках количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) у мужчин и женщин было сопоставимо и составило 12,181 кл/мкл (0,058–63,547) и 18,785 кл/мкл (0,481–56,330) у мужчин и женщин, соответственно ($p = 0,83$).

Далее мы проанализировали вероятность развития ЦМВ-инфекции в зависимости от пола реципиента. Было показано (рисунок 9), что вероятность ЦМВ-инфекции выше у реципиентов женского пола ($p = 0,035$).

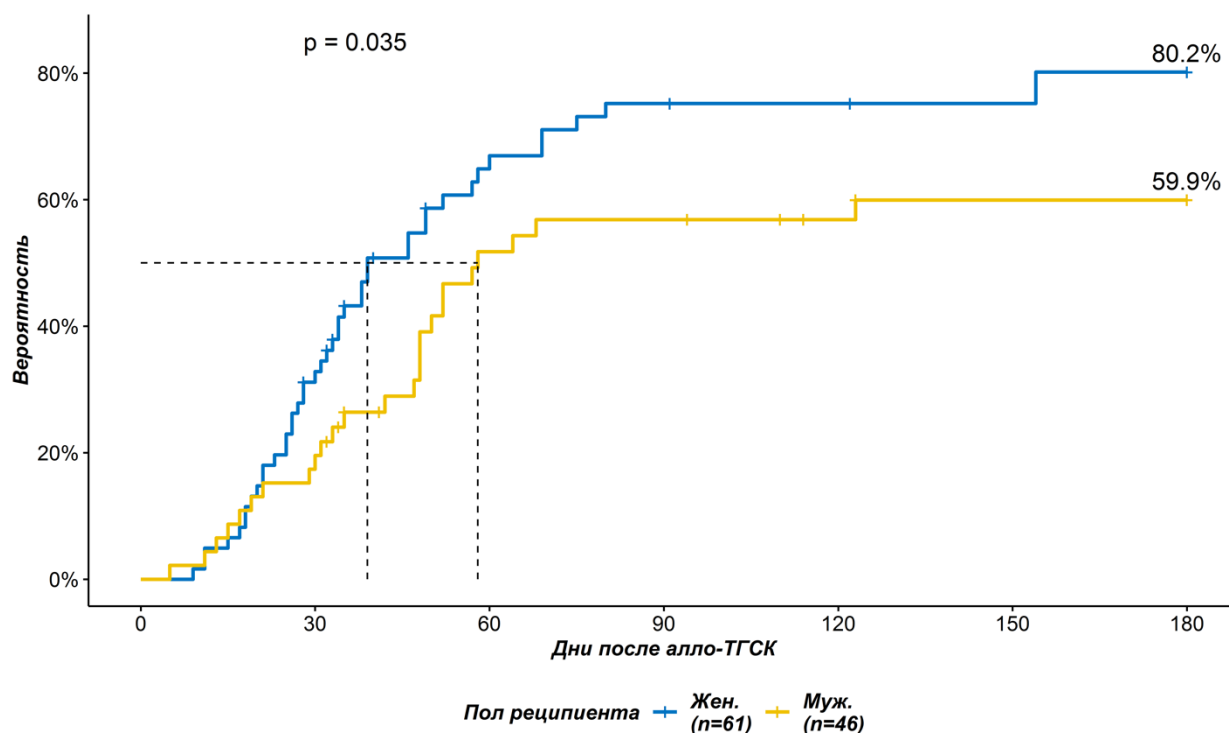


Рисунок 9 – Вероятность ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от пола реципиента

Таким образом, было показано, что пол пациента не влияет на количество ЦМВ-специфических цитотоксических лимфоцитов, однако ЦМВ-инфекцию чаще отмечают у реципиентов женского пола ($p = 0,035$).

Кроме того, мы проанализировали влияние пола пары Д / Р на вероятность ЦМВ-инфекции и, как указано на рисунке 10, в группе, где донор женского пола вероятность ЦМВ-инфекции выше (81,9%, $p = 0,066$).

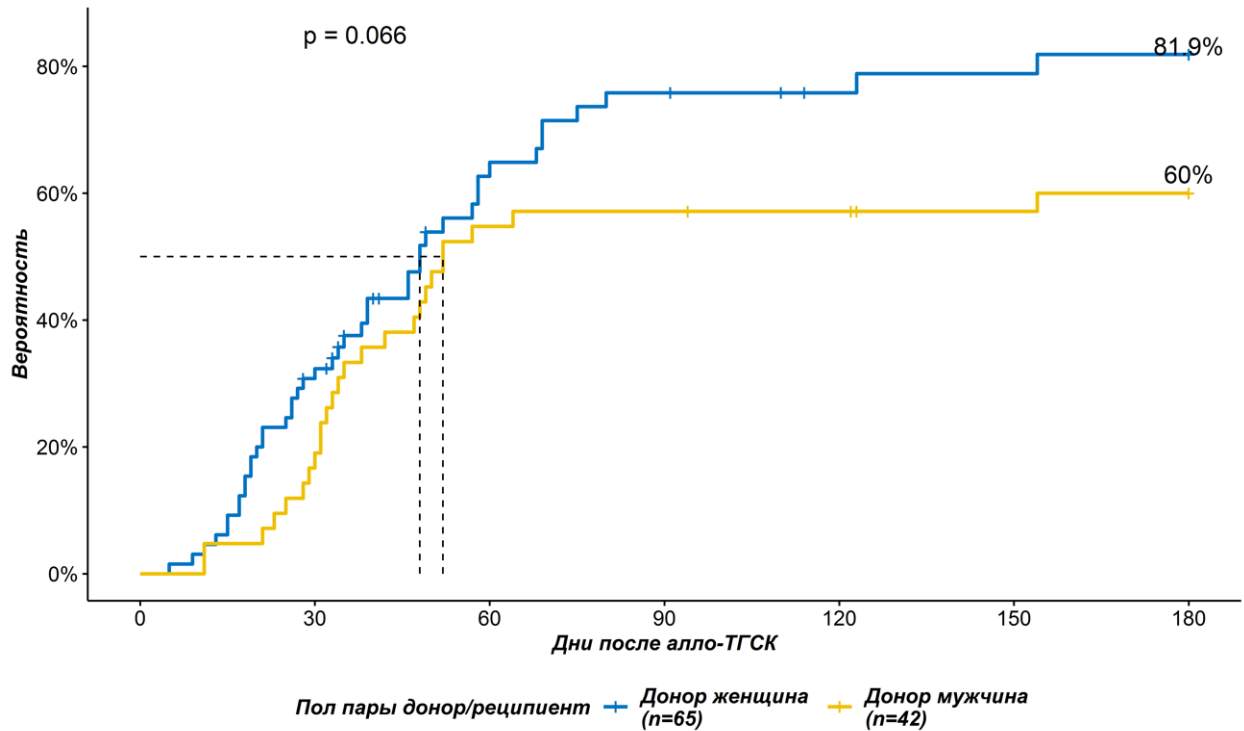


Рисунок 10 – Влияние пола пары Д / Р на вероятность ЦМВ-инфекции

Далее мы выделили четыре варианты пар Д / Р в зависимости от пола и оценили общую вероятность ЦМВ-инфекции (рисунок 11). Показано, что в случае, когда реципиентом и донором выступает женщина, вероятность ЦМВ-инфекции выше (80,2%, $p = 0,066$).

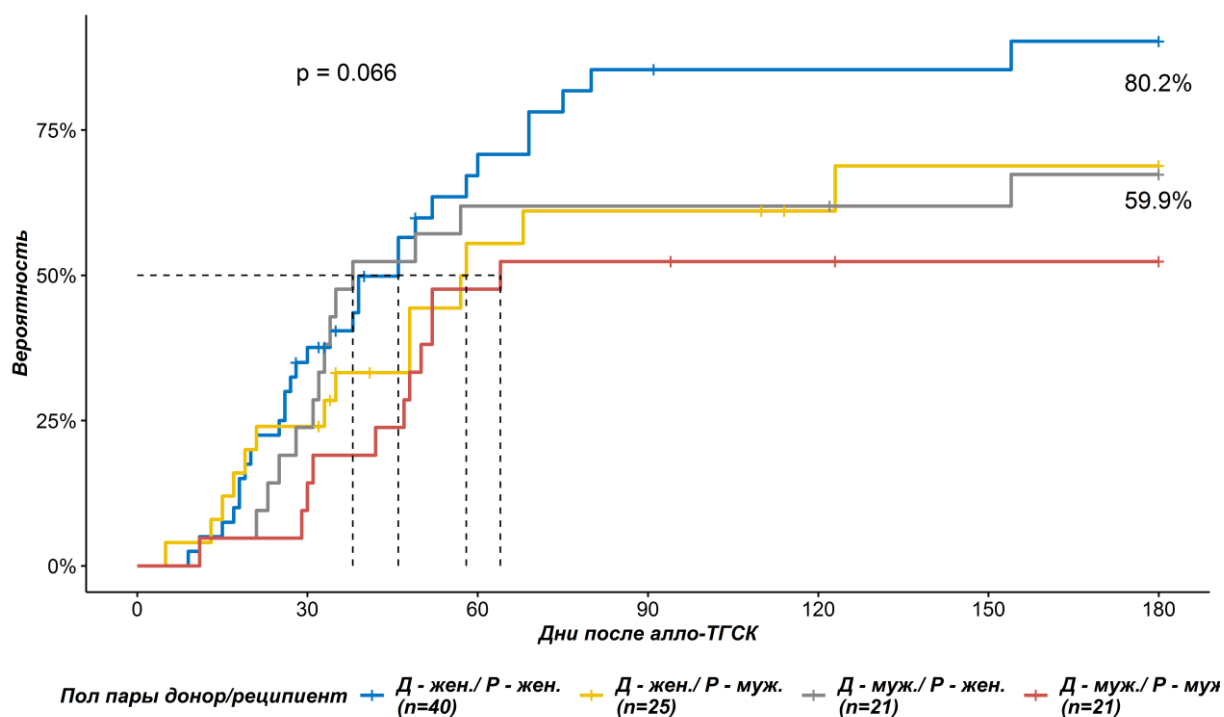


Рисунок 11 – Общая вероятность ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от варианты пола пары донор / реципиент

Таким образом, пол реципиента не влияет на абсолютное число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) после алло-ТГСК, однако частота ЦМВ-инфекции выше в случае, если реципиент женского пола ($p = 0,035$) и составляет 80,2%.

3.6 Влияние серологического статуса пары донор-реципиент на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов и на частоту возникновения цитомегаловирусной инфекции после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Мы оценили реконституцию ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов в зависимости от серологического статуса пары донор / реципиент до проведения им трансплантации.

Всем пациентам в исследуемой группе и их донорам выполняли серологическое исследование крови с определением IgM и IgG к антигенам

цитомегаловирусу. Для родственных доноров анализ выполняли на момент госпитализации, для неродственных – при обследовании перед планируемой мобилизацией и донацией.

На основании определения IgG к ЦМВ мы выделили 4 группы (пары) донор / реципиент (Д / Р). Наибольшая группа включала Д+ / Р+ (n = 81), что обусловлено широким распространением инфицированности цитомегаловирусом в популяции.

Мы проанализировали влияние серологического статуса пары Д / Р на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета.

Число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в зависимости от серологического статуса пары Д / Р отображено в таблице 8.

Таблица 8 – Влияние серологического статуса пары донор-реципиент на количественное восстановление ЦМВ-специфических цитотоксических лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК

Характеристика	Д- / Р- (n = 5)	Д- / Р+ (n = 19)	Д+ / Р- (n = 2)	Д+ / Р+ (n = 81)	p
ЦМВ+ ЦТЛ на +30 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,024 (0,010– 0,157)	0,058 (0,019– 0,247)	0,037 (0,033– 0,041)	0,115 (0,027– 1,548)	0,32
ЦМВ+ ЦТЛ на +90 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,000 (0,000– 0,290)	0,218 (0,057– 9,643)	7,389 (3,703– 11,076)	7,501 (0,188– 53,772)	0,023
ЦМВ+ ЦТЛ на +180 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,028 (0,014– 0,040)	19,310 (0,215– 71,603)	17,706 (8,882– 26,529)	18,973 (1,160– 59,919)	0,14

На рисунке 12 отображен график, демонстрирующий, что к +90 дню достоверные различия отмечали в парах Д- / Р- и Д+ / Р+ ($p = 0,01$) и к +180 дню различия также сохранялись для этой группы ($p = 0,024$).

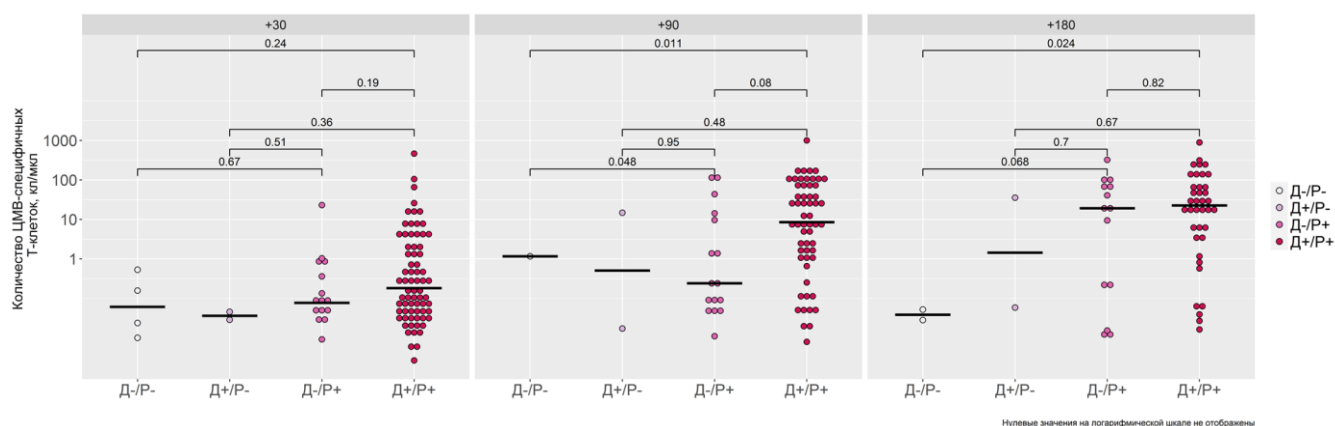


Рисунок 12 – Влияние серологического статуса пары Д / Р на реконституцию ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) после алло-ТГСК

Согласно нашим результатам, в группах Д+ / Р+ ($n = 81$) и Д+ / Р- ($n = 2$), где в обоих случаях наблюдали инфицированность цитомегаловирусом донора, абсолютное число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) было значимо выше. Этот факт вероятнее всего обусловлен переносом ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) вместе с трансплантатом, а для группы Д+ / Р+ механизм может быть связан с тем, что, несмотря на проводимые предтрансплантационное кондиционирование и иммуносупрессивную терапию, резервуары ЦМВ (миелоидные клетки, эндотелиальные клетки) реципиента высвобождают цитомегаловирус длительно и, таким образом, «поддерживают» определенный пул ЦМВ-специфичных CD8⁺ Т-лимфоцитов.

В нашем исследовании в группе Д- / Р-, где ни донор, ни реципиент не имели антител IgG к ЦМВ, отмечали самое низкое абсолютное число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) за весь период наблюдения. Восстановление ЦМВ-специфичного иммунитета у этой когорты больных проходило наиболее медленно.

На рисунке 13 показано, что наименьшее число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на всех сроках исследования отмечали в группе Д- / Р- ($n = 5$).

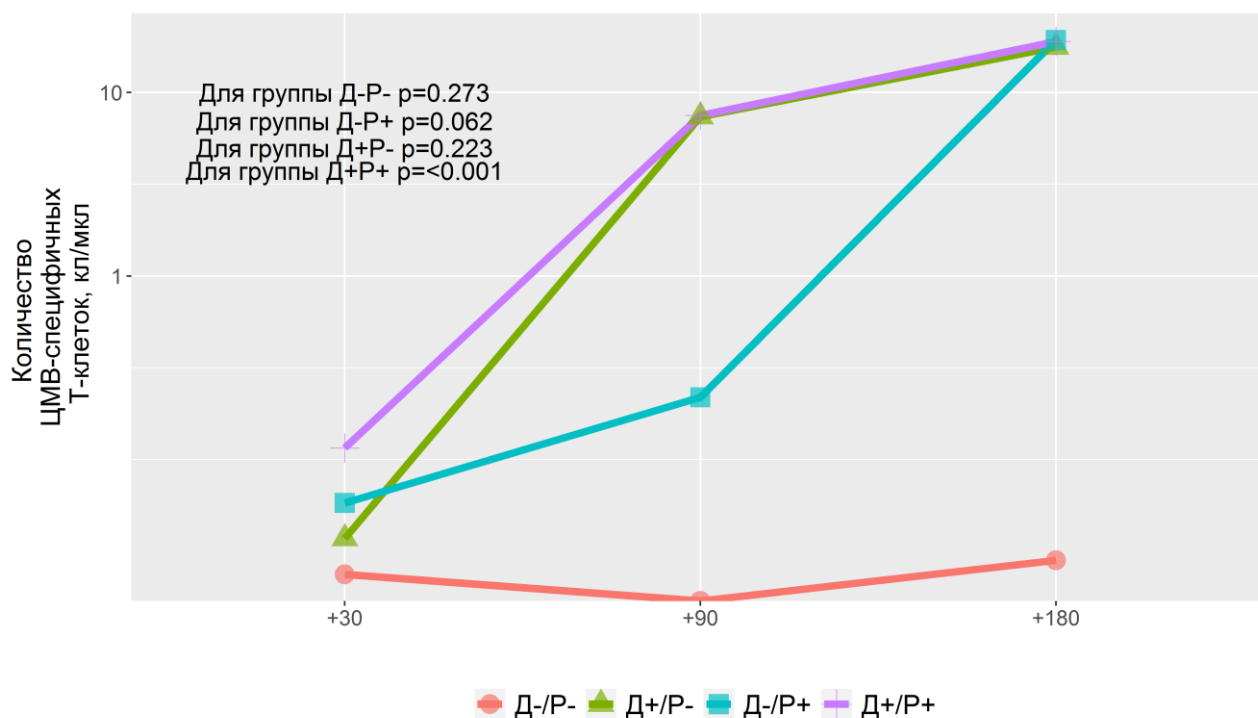


Рисунок 13 – Динамика восстановления абсолютного количества ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от серологического статуса пары донор-реципиент

В зависимости от серологического статуса пары донор / реципиент мы оценили вероятность развития ЦМВ-инфекции.

Как указано на рисунке 14, на ранних сроках после алло-ТГСК вероятность ЦМВ-инфекции выше в группах с инфицированным реципиентом (Д- / P+, Д+ / P+). Развитие ЦМВ-инфекции у этой когорты больных связано с высвобождением ЦМВ из клеток-резервуаров (CD34+ гемопоэтических стволовых клеток, CD14+ моноцитов, эндотелиальных клеток) вследствие как массивного разрушения клеток-резервуаров после кондиционирования, так и дефицита CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов (лимфопении), ответственных за борьбу с ЦМВ.

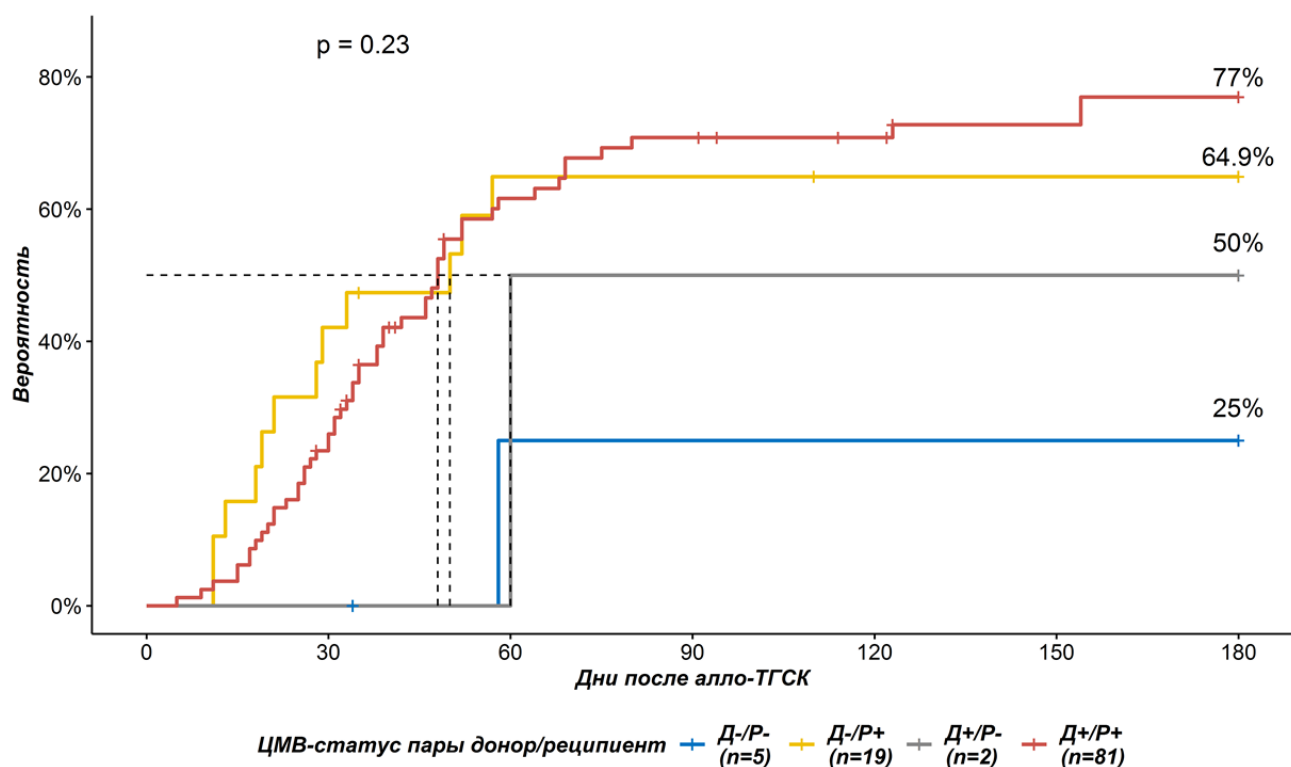


Рисунок 14 – Вероятность развития ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от серологического статуса пары Д / Р

Наименьшая вероятность развития ЦМВ-инфекции отмечена в группе D- / P- (n = 5), что подтверждают и литературные данные.

Тем не менее, развитие ЦМВ-инфекции в 25% случаев для этой группы может объясняться либо исходно неверной идентификацией серологического статуса пары Д / Р до алло-ТГСК, либо инфицированием реципиента уже после трансплантации.

Таким образом, серологический статус пары Д / Р является одним из наиболее важных факторов, влияющих на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета, а вероятность ЦМВ-инфекции выше в группе с серопозитивным реципиентом.

3.7 Режим предтрансплантационного кондиционирования и его влияние на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

В нашем исследовании мы оценили число ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов после алло-ТГСК у пациентов в зависимости от режима предтрансплантационного кондиционирования (рисунок 15).

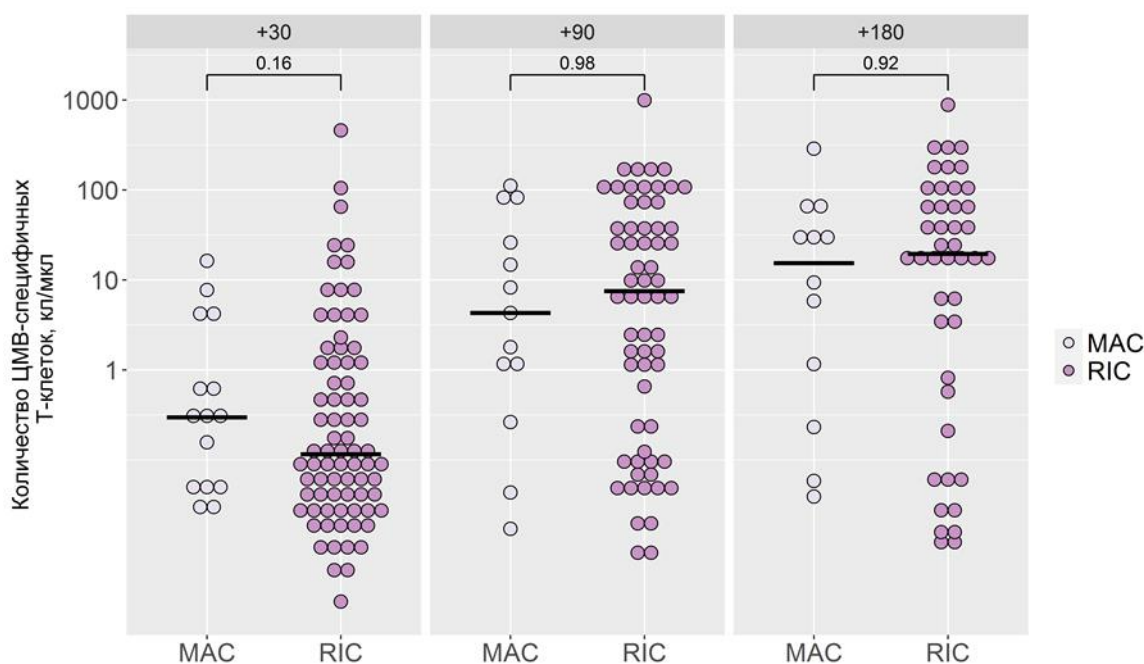


Рисунок 15 – Количество ЦМВ-специфичных Т-клеток (клеток/микролитре) на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от режима предтрансплантационного кондиционирования

Как видно на рисунке 15 количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) для +30 дня не отличалось ($p = 0,16$) и составило 0,281 кл/мкл (0,047–1,451) для MAC и 0,076 кл/мкл (0,019–0,715) для RIC, соответственно.

Подобное соотношение наблюдали и для +90 дня, где абсолютное количество ЦМВ-специфичных клеток также было сопоставимо ($p = 0,98$) при использовании MAC – 3,045 кл/мкл (0,487–23,244) и RIC – 2,734 кл/мкл (0,058–39,478).

На сроке +180 день число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в исследуемых группах также не отличалось ($p = 0,92$) и составило 17,263 кл/мкл (0,696–47,636) для МАС и 18,552 кл/мкл (0,067–64,154) для RIC.

В зависимости от режима предтрансплантационного кондиционирования мы проанализировали вероятность развития ЦМВ-инфекции у пациентов после алло-ТГСК. Наш анализ показал (рисунок 16), что режим предтрансплантационного кондиционирования достоверно не влияет на развитие ЦМВ-инфекции ($p = 0,48$).

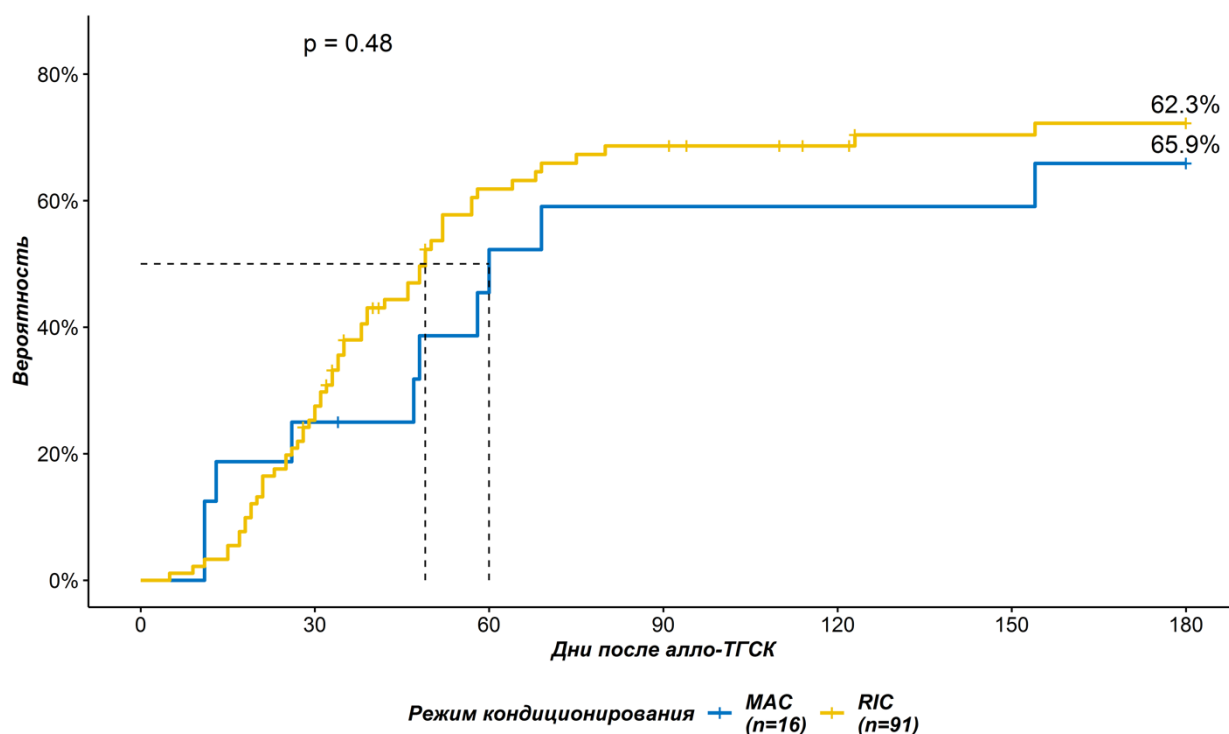


Рисунок 16 – Вероятность развития ЦМВ-инфекции у пациентов после алло-ТГСК в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от режима предтрансплантационного кондиционирования

Наши данные также позволяют сделать вывод, что режим предтрансплантационного кондиционирования не влияет на число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) и вероятность развития ЦМВ-инфекции.

3.8 Влияние источника трансплантата на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

В нашей работе мы оценили воздействие источника трансплантата на восстановление ЦМВ-специфичного иммунитета у пациентов после трансплантации на сроках +30, +90, +180 дней. Анализ проводили для двух основных источников гемопоэтических стволовых клеток – костный мозг (n = 21), стволовые клетки крови (n = 86).

На рисунке 17 показано, что на всех исследуемых контрольных точках мы наблюдали большее количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) при использовании КМ в качестве источника трансплантата.

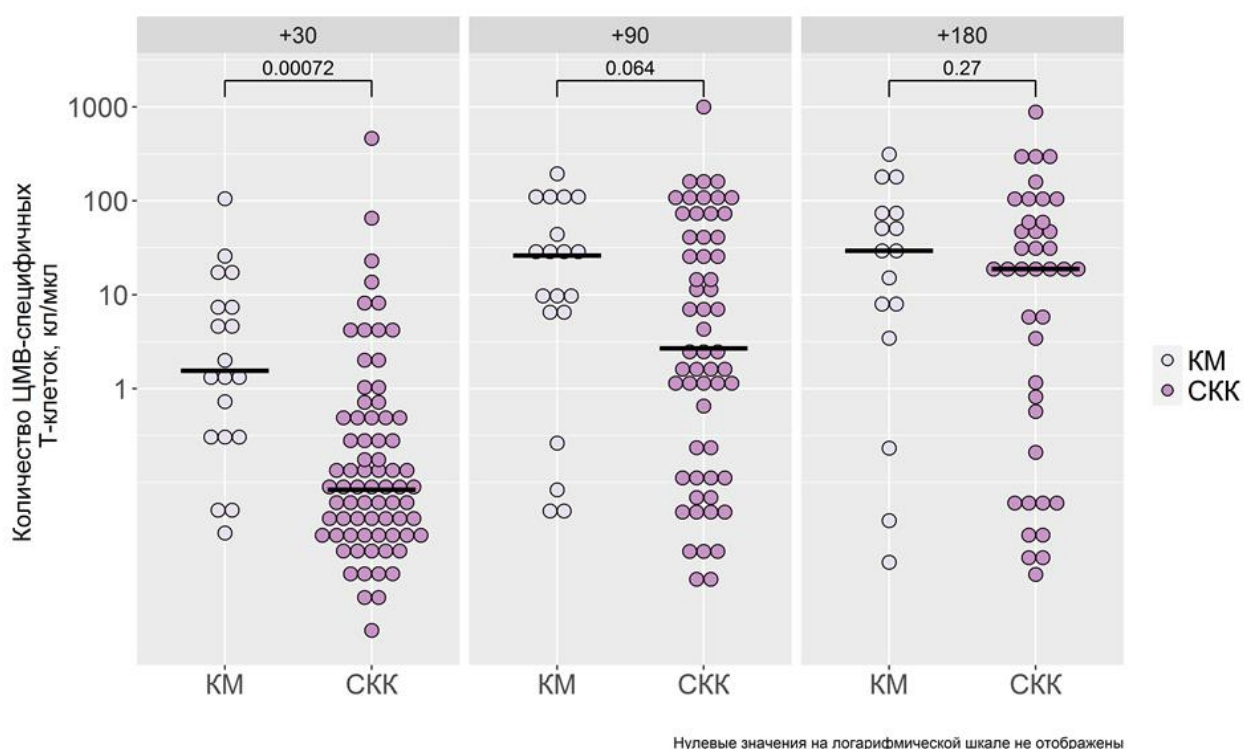


Рисунок 17 – Количество ЦМВ-специфичных Т-клеток (клеток/микролитре) на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от источника трансплантата

Так, статистически значимые различия отмечали на +30 день, где абсолютное количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) для КМ составило 1,422 кл/мкл (0,258–6,994) против 0,065 кл/мкл (0,019–0,315) для СКК ($p = 0,00072$). На последующих сроках различий в числе ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) не отмечали: на +90 день ($p = 0,064$) – 18,744 кл/мкл (4,310–57,245) против 1,405 кл/мкл (0,053–29,553), на + 180 день ($p = 0,27$) – 29,668 кл/мкл (5,938–73,505) против 17,734 кл/мкл (0,058–56,330) для КМ и СКК, соответственно.

На первый взгляд данные противоречат тому, что в СКК содержится большее число Т-клеток, что ведет к более быстрому восстановлению Т-клеточного иммунитета. Однако известно, что использование СКК сопряжено с более высокой вероятностью развития острой РТПХ и необходимостью назначения более «высокоагрессивных» иммуносупрессивных препаратов, а также, что этот источник трансплантата применяется при трансплантации преимущественно от неродственных и гаплоидентичных доноров, где широко применяется ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция.

КМ в качестве источника трансплантата преимущественно используют для родственных совместимых алло-ТГСК, где для профилактики РТПХ не используют «высокоагрессивные агенты» такие как ПТ-ЦФ, а также такие *ex vivo* манипуляции с трансплантатом, как TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция. Вероятнее всего полученные нами статистически значимые различия в количестве ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл), особенно на ранних сроках, ассоциированы именно с применением более интенсивных режимов профилактики РТПХ при использовании СКК в качестве источника трансплантата.

Кроме того, мы проанализировали динамику восстановления ЦМВ-специфичных Т-клеток в течение 6 месяцев после алло-ТГСК. Как отображено на рисунке 18, на каждом исследуемом сроке после алло-ТГСК при использовании обоих источников ГСК отмечался прогрессивный прирост количества ЦМВ-ЦТЛ.

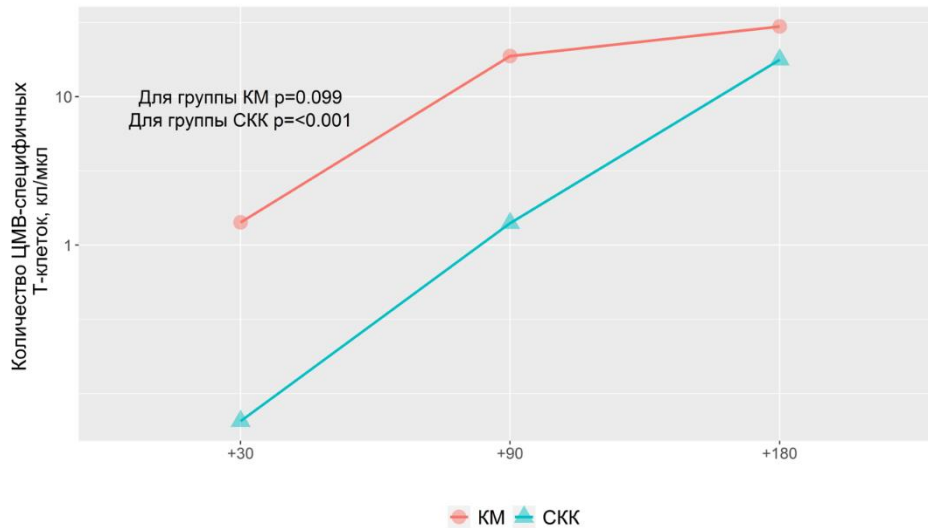


Рисунок 18 – Динамика абсолютного количества ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от источника трансплантата

Мы оценили вероятность развития ЦМВ-инфекции в зависимости от источника гемопоэтических стволовых клеток.

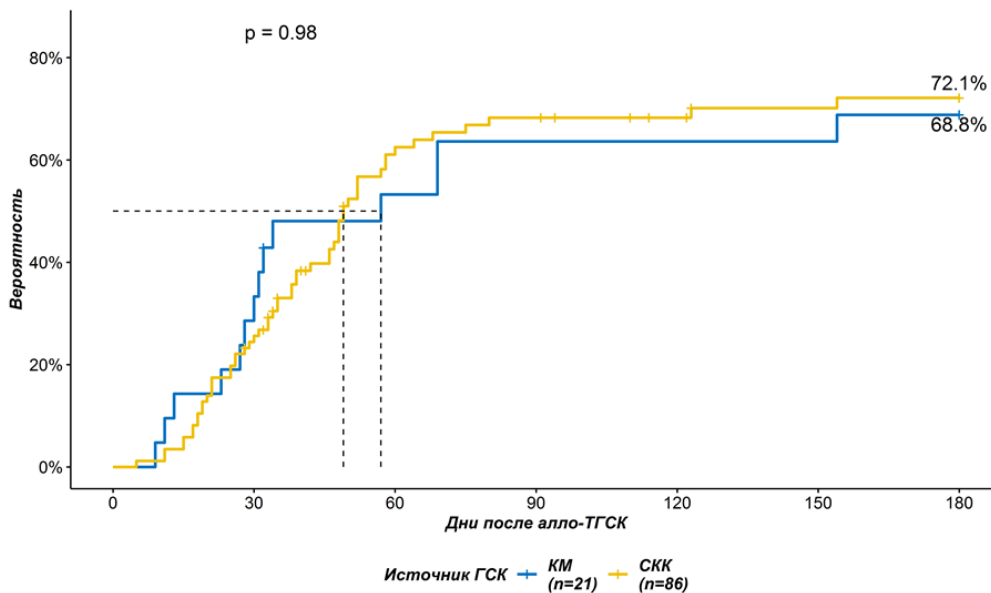


Рисунок 19 – Вероятность развития ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от источника гемопоэтических стволовых клеток

Как показано на рисунке 19, статистически достоверных различий в воздействии источника ГСК на вероятность развития ЦМВ-инфекции не обнаружено ($p = 0,98$).

Таким образом, статистически значимые различия в количестве ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) отмечали на сроке +30 день ($p = 0,00072$), а вероятность развития ЦМВ-инфекции при использовании КМ и СКК сопоставима ($p = 0,98$).

3.9 Вид трансплантации и реконституция цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Нами отдельно было проанализировано влияние вида донора на реконституцию ЦМВ-специфического Т-клеточного иммунитета (таблица 9).

На +30 день наибольшее количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) наблюдали при выполнении алло-ТГСК от родственного совместимого донора (1,761 кл/мкл (0,265–7,746)), что являлось достоверно значимым ($p < 0,001$). Аналогичные показатели отмечали и на сроке на +90 день ($p = 0,002$), когда абсолютное количество ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов составляло 27,196 кл/мкл (6,752–93,961).

Только на сроке +180 дней определяли динамику увеличения абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-клеток для иных видов донора. Так, максимальное число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) наблюдали при трансплантации от неродственного совместимого донора – 60,429 (16,960–112,318). Число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) при родственном совместимом доноре на +180 день составило 41,505 кл/мкл (7,426–145,841).

Количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) при выборе родственного гаплоидентичного донора было значимо ниже относительно других видов алло-ТГСК и сохранялось таковым на протяжении всего периода исследования.

Таблица 9 – Влияние вида алло-ТГСК на количественное восстановление ЦМВ-специфических цитотоксических лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК

Характеристика	Родственная совместимая (n = 29)	Неродственная совместимая (n = 26)	Неродственная частично совместимая (n = 13)	Родственная гаплоидентичная (n = 39)	p
ЦМВ+ ЦТЛ на +30 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	1,761 (0,265–7,746)	0,098 (0,011–0,939)	0,043 (0,027–0,064)	0,041 (0,011–0,103)	< 0,001
ЦМВ+ ЦТЛ на +90 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	27,196 (6,752–93,961)	2,784 (0,084–69,528)	0,805 (0,070–12,386)	0,124 (0,017–2,180)	0,002
ЦМВ+ ЦТЛ на +180 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	41,505 (7,426–145,841)	60,429 (16,960–112,318)	18,508 (0,210–21,661)	0,989 (0,046–16,384)	0,011

Вид донора при алло-ТГСК как фактор, влияющий на реконституцию ЦМВ-специфичных Т-клеток, невозможно рассматривать без сопоставления с режимами профилактики РТПХ, применяемыми для каждого вида донора. Так, при наличии родственного совместимого донора иммуносупрессивная терапия наименее токсична для Т-клеток и включает в себя ингибиторы кальциневрина, метотрексат, микофенолата мофетил и др.

При неродственных совместимых алло-ТГСК в режимах профилактики РТПХ используют более агрессивную иммуносупрессию, в том числе АТГ и ПТ-ЦФ, что приводит к снижению числа ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в раннем посттрансплантационном периоде, что и демонстрируют наши результаты.

Ввиду наибольшего риска развития РТПХ у пациентов после алло-ТГСК от неродственного частично совместимого и родственного гаплоидентичного донора, проводимая иммуносупрессивная терапия должна быть наиболее «высокоагрессивна». Так, в группе гаплоидентичных ТГСК наиболее частыми методиками профилактики РТПХ являются *in vivo* (ПТ-ЦФ) и *ex vivo* деплеция (TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция), что напрямую сопряжено с отсроченной реконституцией иммунитета ввиду «механического» или «химического» удаления Т-клеток. Аналогичный принцип наблюдается и при неродственных частично совместимых алло-ТГСК, где в подавляющем числе случаев используют ПТ-ЦФ в качестве профилактики РТПХ.

В нашей работе мы оценили влияние вида донора на вероятность развития ЦМВ-инфекции. Результаты, отображенные на рисунке 20, демонстрируют, что выявление ЦМВ-инфекции сопоставимо для всех видов донора ($p = 0,83$).

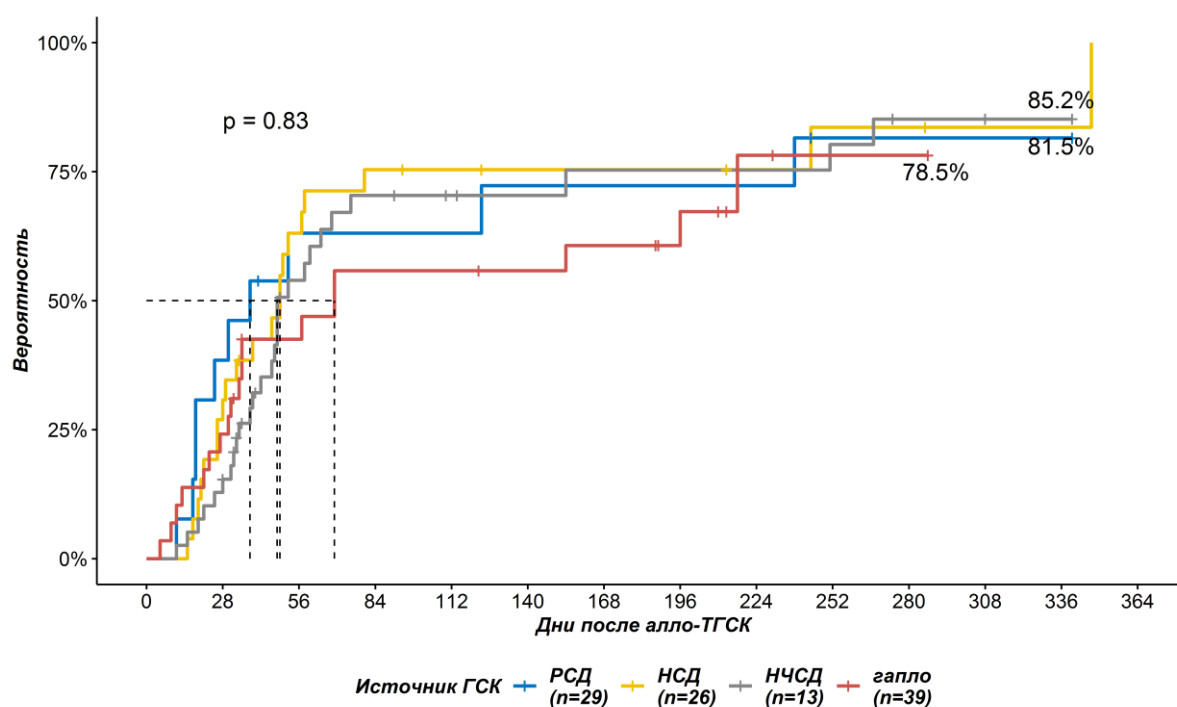


Рисунок 20 – Влияние вида донора на вероятность развития ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации

Таким образом, вид донора является значимым фактором, влияющим на реконституцию ЦМВ-специфичных Т-клеток у пациентов после алло-ТГСК, но напрямую на саму реконституцию он не влияет. Вероятность развития ЦМВ-инфекции сопоставима в исследуемых группах ($p = 0,83$).

3.10 Режим профилактики реакции «трансплантат против хозяина» и его влияние на реконституцию цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Для того, чтобы проанализировать влияние режима профилактики РТПХ на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета, мы выделили группы пациентов в зависимости применения иммуносупрессивной терапии. Почти у половины больных схемы профилактики РТПХ включали ПТ-ЦФ ($n = 52$). Второй наиболее используемый режим включал АТГ ($n = 22$). $TCR\alpha\beta$ -/CD19-деплецию применяли для 13 пациентов и комбинации АТГ + ПТ-ЦФ для 12 больных. Другие режимы профилактики РТПХ ($n = 8$) включали метотрексат, тимоглобулин и комбинации уже перечисленных препаратов.

Абсолютное количество ЦМВ-специфических цитотоксических лимфоцитов на разных сроках после алло-ТГСК отражено в таблице 10.

Режимы профилактики РТПХ, включающие ПТ-ЦФ и $TCR\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, продемонстрировали наименьшее количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на +30 день: 0,052 кл/мкл (0,017–0,163) против 0,031 кл/мкл (0,000–0,119), соответственно, и аналогично на +90 день: 7,741 кл/мкл (1,373–40,015) против 0,918 кл/мкл (0,015–2,419), соответственно. К +180 дню в группе с $TCR\alpha\beta$ -/CD19-деплецией отмечался прирост числа ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) до 1,160 кл/мкл (0,438–17,973).

Мы проанализировали динамику восстановления ЦМВ-специфических цитотоксических лимфоцитов. Результаты отображены на рисунке 21, 22.

Таблица 10 – Влияние режима профилактики РТПХ на количественное восстановление ЦМВ-специфических цитотоксических лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК

Характеристика	Другое (n = 8)	АТГ (n = 22)	АТГ + ЦФ (n = 12)	ЦФ (n = 52)	TCRαβ-/CD19- деплегция (n = 13)	p
ЦМВ+ ЦТЛ на +30 сут алло- ТГСК (медиана, МКР)	0,544 (0,212– 7,562)	1,338 (0,183– 7,551)	0,052 (0,017– 0,163)	0,059 (0,024– 0,355)	0,031 (0,000– 0,119)	< 0,001
ЦМВ+ ЦТЛ на +90 сут алло- ТГСК (медиана, МКР)	28,951 (0,208– 101,404)	9,965 (2,378– 33,360)	0,978 (0,036– 39,597)	7,741 (1,373– 40,015)	0,918 (0,015– 2,419)	0,095
ЦМВ+ ЦТЛ на +180 сут алло- ТГСК (медиана, МКР)	9,403 (3,500– 42,521)	72,898 (18,596– 153,764)	0,577 (0,022– 30,363)	21,661 (15,720– 41,531)	1,160 (0,438– 17,973)	0,017

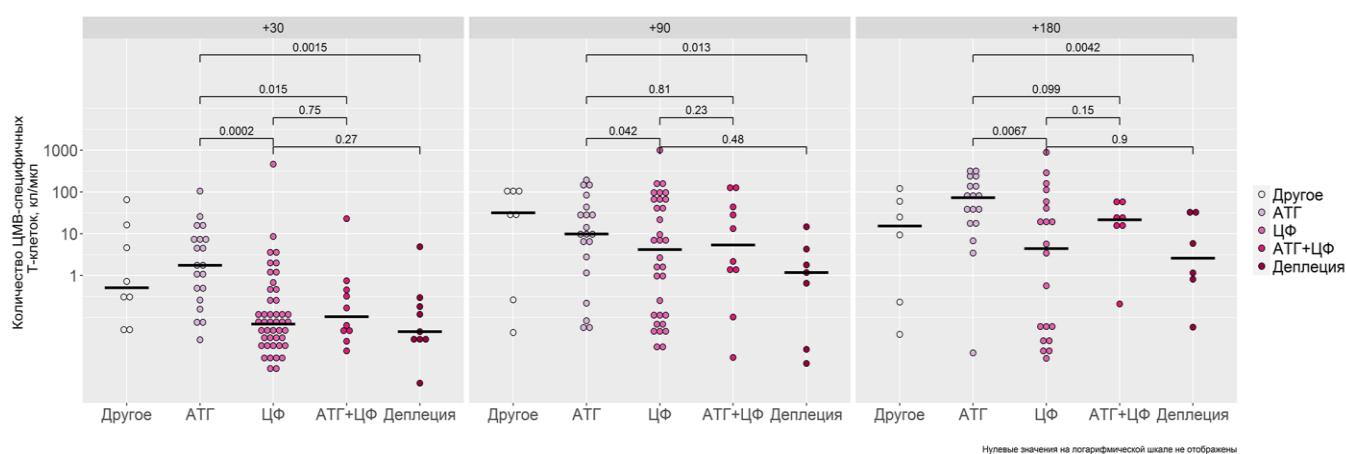


Рисунок 21 – Абсолютное число ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от режима профилактики РТПХ

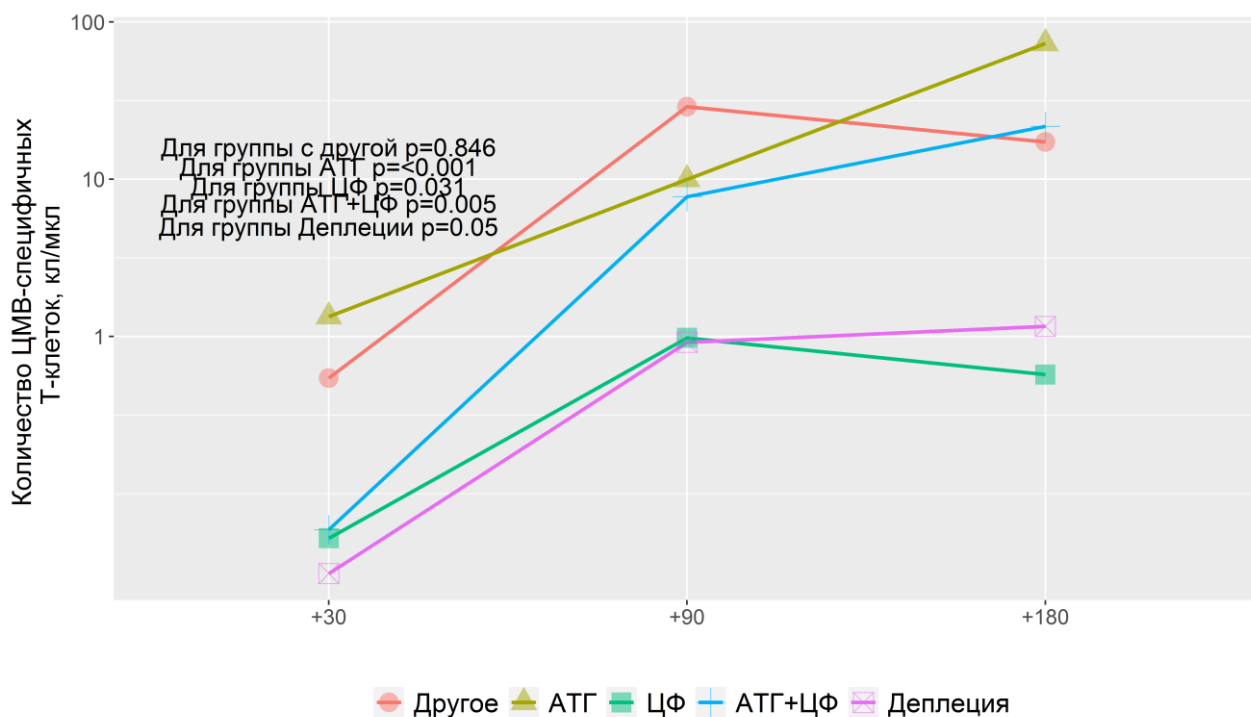


Рисунок 22 – Динамика восстановления абсолютного количества ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от режима профилактики РТПХ

Наши результаты показывают, что на +30 день статистически значимые различия в количестве ЦМВ-ЦТЛ (клеток/мл) отмечали в группах с применением АТГ и ЦФ ($p = 0,0002$), в группах с АТГ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией ($p = 0,0015$). На +90 день достоверно значимые различия отмечали в группах пациентов с применением АТГ и Т-деплеции ($p = 0,013$), к +180 дню различия сохранялись в группе с АТГ и ПТ-ЦФ ($p = 0,0067$) и АТГ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция ($p = 0,0042$).

Проведен анализ влияния режима иммуносупрессивной терапии на общую вероятность развития ЦМВ-инфекции и, как продемонстрировано на рисунке 23, вероятность возникновения ЦМВ-инфекции сопоставима во всех сравниваемых группах ($p = 0,87$).

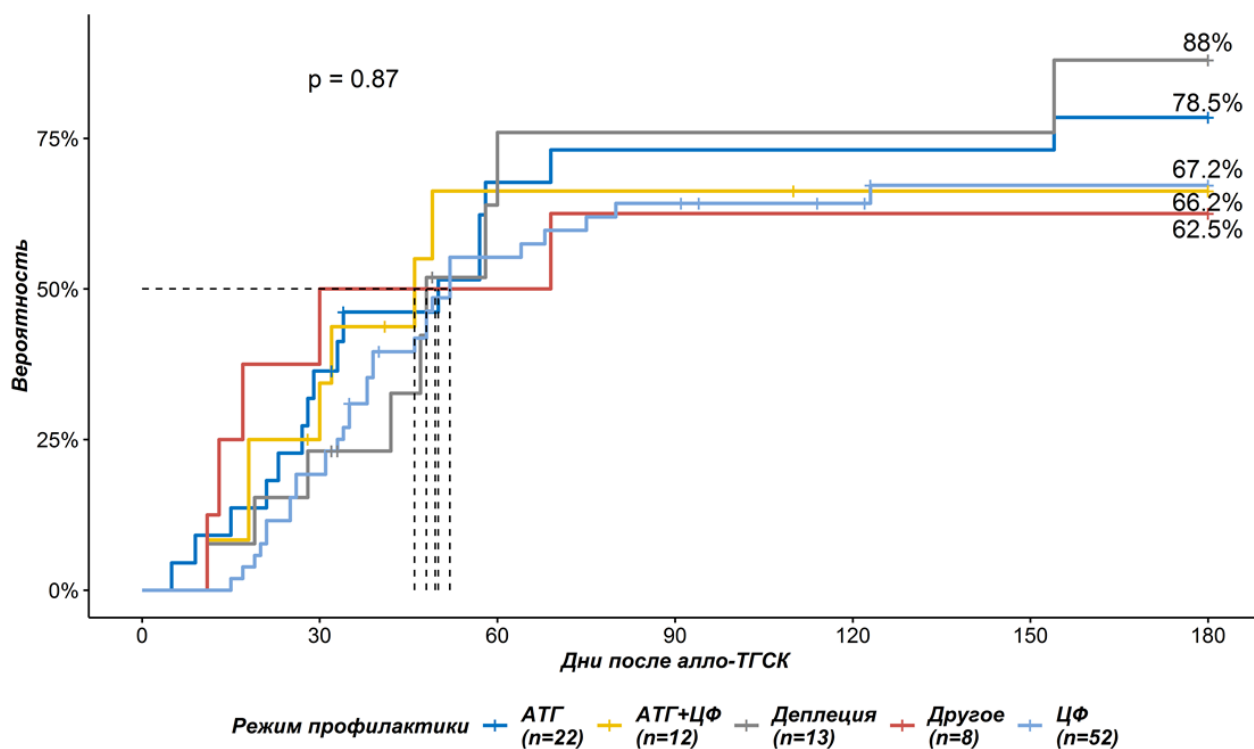


Рисунок 23 – Вероятность развития ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от режима профилактики реакции «трансплантат против хозяина»

Таким образом, при применении «высокоагрессивных» режимов профилактики РТПХ, включающих ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) достоверно ниже на +30, +90, +180 день после алло-ТГСК. Применение АТГ продемонстрировало большее число ЦМВ-специфических Т-клеток на всех контрольных точках, что говорит лишь о недостаточной способности данного агента к лимфоабляции. Тем не менее, вероятность развития ЦМВ-инфекции в различных группа профилактики РТПХ не отличается.

3.11 Идентификация пациентов из группы высокого риска по развитию цитомегаловирусной инфекции

Следующей частью нашей работы являлось определить группы пациентов высокого риска развития ЦМВ-инфекции в первые +180 дней после трансплантации. Мы провели многофакторный анализ с учетом всех факторов ранее показавших значимое влияние как на количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл), так и на развитие ЦМВ-инфекции.

Учитывая сообщение о влиянии пола на ЦМВ-инфекцию в общей популяции и наши данные, а также тот факт, что пол пары донора и реципиента может не совпадать, мы включили этот фактор в виде комбинации пола пары донор / реципиент и провели многофакторный анализ (рисунок 24).

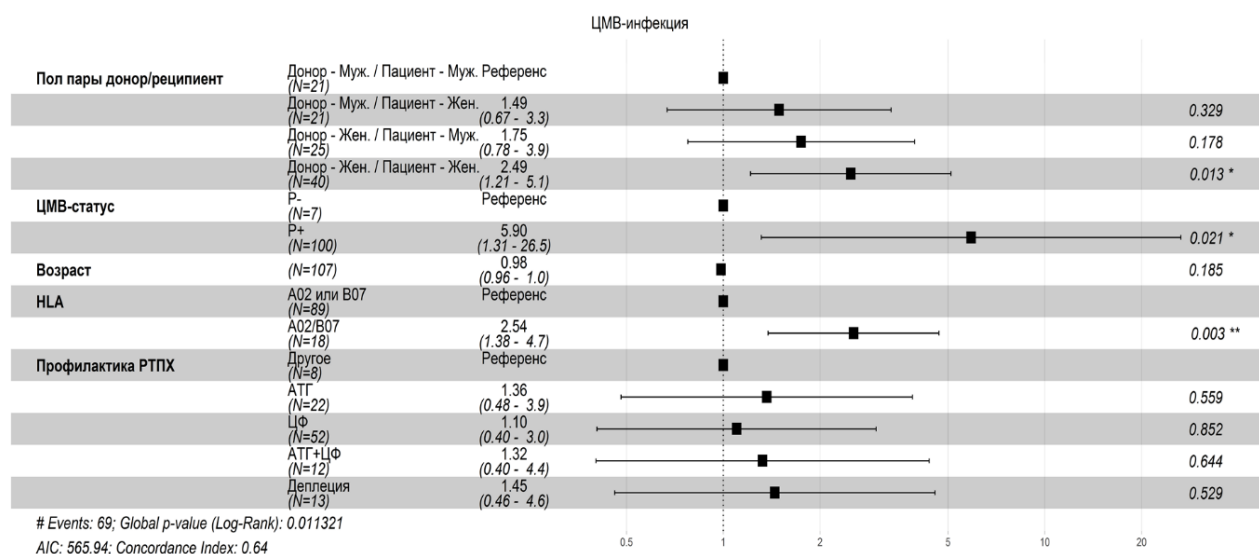


Рисунок 24 – Идентификация группы высокого риска по ЦМВ-инфекции на основании многофакторного анализа

Выявлено, что наиболее значимыми факторами, увеличивающими вероятность развития ЦМВ-инфекции, являются пол пары донор / реципиент, инфицированность реципиента цитомегаловирусом, а также вариант молекулы HLA-A*02/B*07. По результатам анализа к группе с наиболее высоким риском ЦМВ-инфекции относятся серопозитивные (HR–5,9) реципиенты женского пола,

получившие трансплантацию от донора женского пола (HR–2,49) с генотипом HLA-A*02/B*07 (HR–2,54).

3.12 Влияние реакции «трансплантат против хозяина» на реконституцию цитомегаловирус-специфичного иммунитета после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Развитие оРТПХ отмечали у 31 пациента (29%).

Мы оценили количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на сроках +30, +90, +180 дней после трансплантации в зависимости от развития острой РТПХ (рисунок 25). Достоверно значимых различий в исследуемых группах не обнаружено.

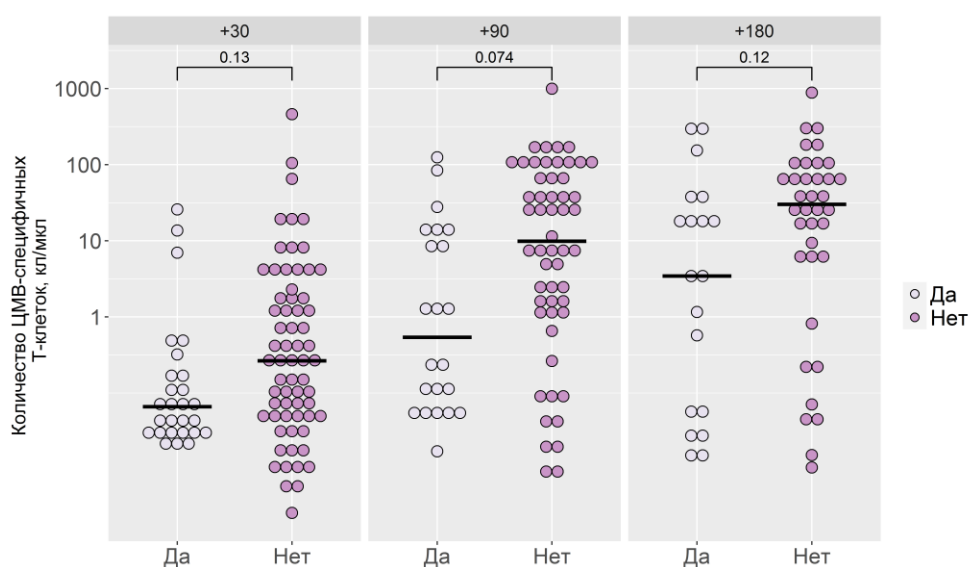


Рисунок 25 – Влияние оРТПХ на реконституцию абсолютного числа ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на сроках +30, +90, +180 дней после алло-ТГСК

На рисунке 26 показано, что вероятность ЦМВ-инфекции в исследуемых группах сопоставима ($p = 0,7$). Таким образом, дебют оРТПХ не влияет на число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) и вероятность развития ЦМВ-инфекции.

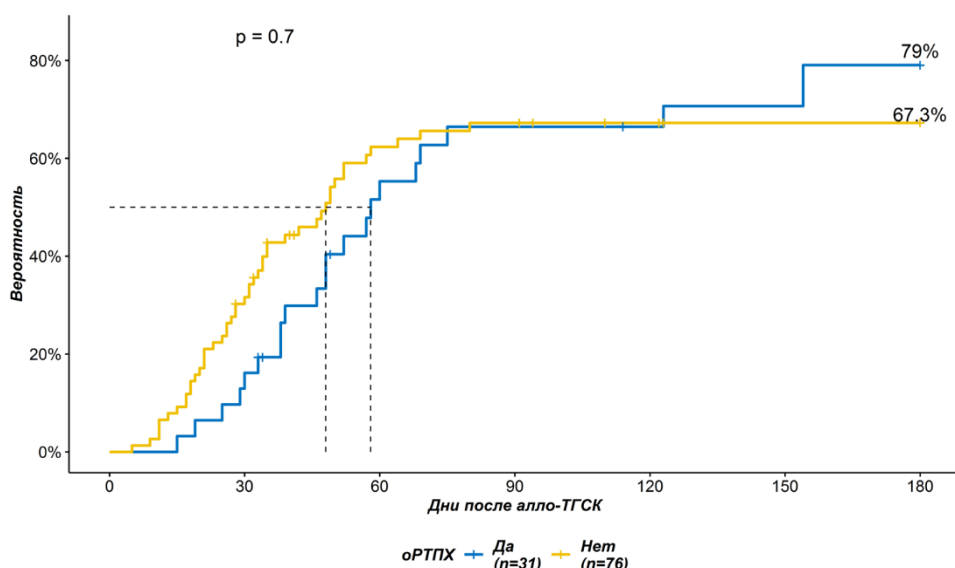


Рисунок 26 – Вероятность развития ЦМВ-инфекции в течение +180 дней после трансплантации в зависимости от развития острой РТПХ

Далее мы проанализировали влияние терапии РТПХ на реконституцию ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов. Мы оценили число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в случае начала терапии оРТПХ до +90 дня после алло-ТГСК (таблица 11). Как указано в таблице, исходно к +30 дню число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в исследуемых группах было сопоставимо.

Таблица 11 – Влияние схемы ИСТ при лечении РТПХ на реконституцию ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов в случае начала терапии до +90 дня

Характеристика	Без оРТПХ, n = 80	оРТПХ до +90 дня, n = 21	p
ЦМВ+ ЦТЛ на +30 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,1 (0,0 – 1,2)	0,0 (0,0 – 0,1)	0,20
ЦМВ+ ЦТЛ на +90 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	7 (0 – 59)	0 (0 – 3)	0,028
ЦМВ+ ЦТЛ на +180 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	26 (1 – 74)	1 (0 – 24)	0,10

Однако, в группе с оРТПХ, когда интенсификацию иммуносупрессии выполняли в период с +30 по +90 день, на следующих контрольных точках исследования число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) было ниже, что также отображено и на рисунке 27.

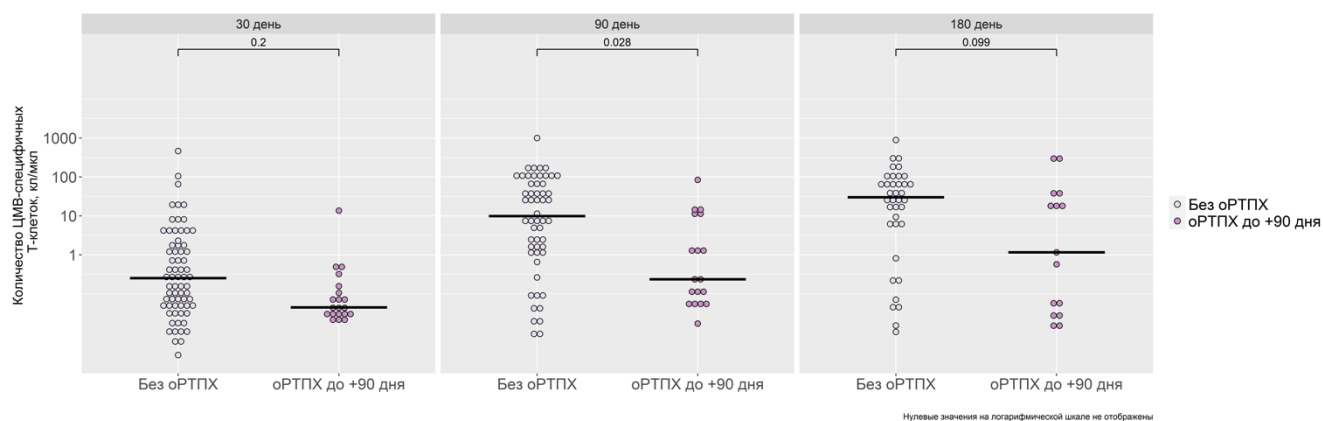


Рисунок 27 – Число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в случае начала терапии оРТПХ до +90 дня после алло-ТГСК

Причина низкого числа ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов, по-видимому, обусловлена интенсификацией иммуносупрессивной терапии, применяемой для лечения РТПХ.

3.13 Влияние трансфузии цитомегаловирус-специфичных Т-лимфоцитов донора на реконституцию цитомегаловирус-специфичного Т-клеточного иммунитета и развитие цитомегаловирусной инфекции после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

На основании полученных нами результатов, демонстрирующих, что наиболее глубокий иммунодефицит по ЦМВ-иммунитету на +30, +90, +180 день после алло-ТГСК характерен для пациентов после «высокоагрессивных» режимов профилактики РТПХ (ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплегция), мы провели адаптивную

терапию (трансфузию ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов донора (ЦМВ-ТЛД)) 17 пациентам (15,7%) с этими режимами профилактики РТПХ.

Далее мы провели оценку абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов в группе с ЦМВ-ТЛД, а также в группе пациентов (n = 47) с аналогичными режимами профилактики РТПХ (ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция), но не получивших трансфузию ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл). Мы сравнили два фактора, влияющих на ЦМВ-специфичный иммунитет, – режим профилактики РТПХ и ЦМВ-серостатус донора и реципиента (таблица 12).

Мы проанализировали влияние ЦМВ-ТЛД на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета. До ЦМВ-ТЛД и после у пациентов в крови обнаруживали ЦМВ-специфичные Т-лимфоциты. ЦМВ-ТЛД выполняли после +30 дня при условии констатации приживления трансплантата с определением донорского химеризма. В таблице 13 отображено абсолютное число ЦМВ-ЦТЛ при сравнении групп пациентов после ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеции после ЦМВ-ТЛД и без трансфузии.

Таблица 12 – Характеристика пациентов с выполнением и без трансфузии ЦМВ-специфичных лимфоцитов донора на основании режима профилактики РТПХ и серологического статуса Д / Р

Характеристика	Без ЦМВ-ТЛД (n = 47)	ЦМВ-ТЛД (n = 17)	p
Режим профилактики РТПХ, n (%)			0,16
ПТ-ЦФ	35 (74%)	16 (94%)	
TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция	12 (26%)	1 (6%)	
ЦМВ-серостатус Д / Р, n (%)			0,92
Д- / Р-	3 (6,4%)	0 (0%)	
Д+ / Р-	2 (4,6%)	0 (0%)	
Д- / Р+	5 (11%)	2 (12%)	
Д+ / Р+	37 (79%)	15 (88%)	

Таблица 13 – Влияние трансфузии ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов на реконституцию ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов

Характеристика	Без ЦМВ-ТЛД, n = 47	ЦМВ-ТЛД, n = 17	p
ЦМВ+ ЦТЛ на +30 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,041 (0,009–0,111)	0,077 (0,028–0,484)	0,18
ЦМВ+ ЦТЛ на +90 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,092 (0,01–3,67)	7,516 (1,865–43,985)	0,013
ЦМВ+ ЦТЛ на +180 сут алло-ТГСК (медиана, МКР)	0,571 (0,021–24,532)	20,154 (11,792–30,363)	0,24

Как продемонстрировано на рисунке 28, в группе пациентов которым выполнялась трансфузия ЦМВ-специфичных лимфоцитов, количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на +90 день было значимо больше по сравнению с группой без трансфузии ($p = 0,013$).

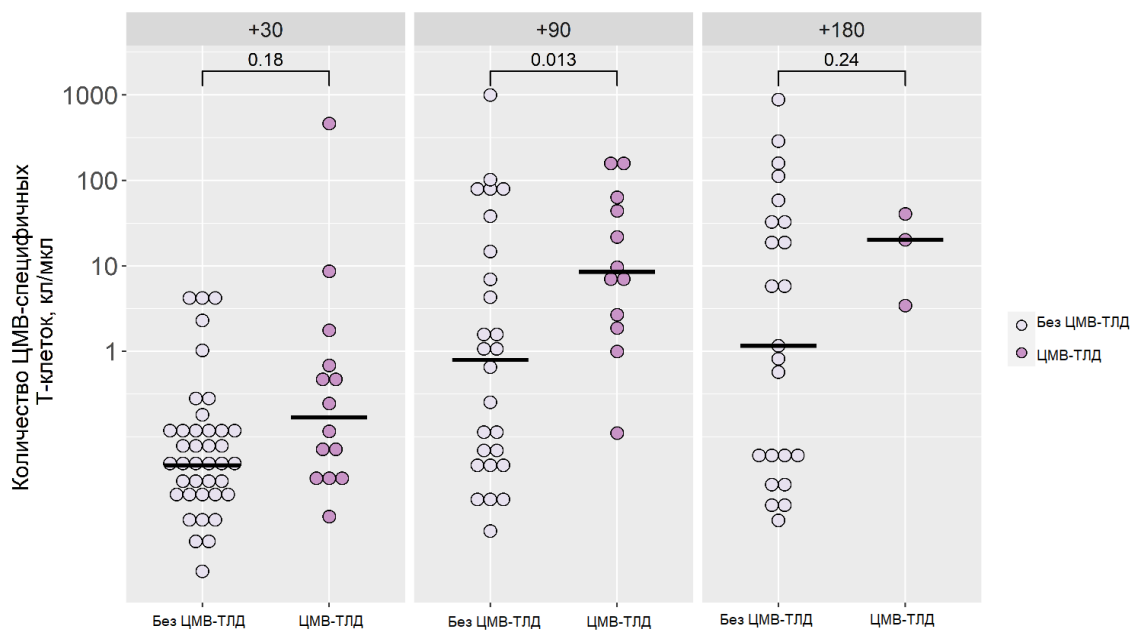


Рисунок 28 – Реконституция ЦМВ-специфических Т-клеток на сроках +30, +90, +180 сутки после алло-ТГСК в зависимости от трансфузии ЦМВ-специфичных лимфоцитов донора

Таким образом, наш анализ показал, что трансфузия донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов эффективно влияет на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета после трансплантации у пациентов с «высокоагрессивными» режимами профилактики РТПХ, включающих ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию.

Глава 4. Обсуждение

Среди инфекционных осложнений у пациентов после алло-ТГСК ЦМВ-инфекция по-прежнему занимает одну из лидирующих позиций по частоте встречаемости и, несмотря на рутинность идентификации антител и ДНК цитомегаловируса в биологических жидкостях, определение подходов к профилактике, превентивной терапии и назначения таргетной терапии, ассоциирована с высокими показателями летальности и сопутствующих осложнений, особенно на ранних сроках после трансплантации (до +100 дня) [220]. По разным данным частота развития ЦМВ-инфекции на сроках до +100 дня после трансплантации составляет от 48,7% до 60,3% [220, 251].

В литературных данных сообщается, что высокая частота обнаружения ЦМВ-инфекции на сроках до +100 дня после трансплантации связана с применением химиопрепаратов, входящих в режимы предтрансплантационного кондиционирования, а также в схемы профилактики РТПХ.

В нашей работе мы изучили реконституцию противоинфекционного (противовирусного) иммунитета, а также проанализировали факторы, влияющие на реконституцию ЦМВ-специфичных лимфоцитов. Кроме того, мы оценили взаимосвязь числа ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл), то есть клеточные параметры, и вероятность развития ЦМВ-инфекции, а также влияние различных факторов на это.

В настоящее время в клинической практике принято использовать международные критерии диагноза ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни, принятые на Европейской конференции по инфекциям при лейкемии (European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7)) и группой «The CMV Drug Development Forum» для реципиентов трансплантированных солидных органов и гемопоэтических стволовых клеток [232]. Сопоставимые критерии выделил P. Ljungman и соавт. [5], то есть изоляция вируса и/или детекция вирусных белков (антигена) и/или ДНК цитомегаловируса в любой биологической жидкости или ткани организма независимо от наличия или отсутствия любых клинических проявлений. А ЦМВ-

болезнь – это ЦМВ-инфекция, протекающая с поражением органов-мишеней, требующая молекулярно-генетического, культурального, гистологического и (или) иммуногистохимического подтверждения поражения цитомегаловирусом органа-мишени [51, 143].

Несмотря на это, в клинической практике критерии диагноза варьируются от центра к центру. Кроме того, в некоторых центрах используют пороговые значения концентрации вирусной нагрузки для определения диагноза ЦМВ-инфекции (что оправдано для начала терапии, но не для установления диагноза). Таким образом, реальный процент ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни варьируется в зависимости от трансплантационного центра, что и обуславливает разнообразие данных по частоте ЦМВ-инфекции.

В нашей работе мы применяли международные критерии диагностики ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни, предложенные P. Ljungman и соавт. [141, 142]. Было показано, что медиана развития ЦМВ-инфекции составила 49 дней, частота развития ЦМВ-инфекции составила 71,4%, ЦМВ-болезни – 4,5%. Полученный нами низкий процент ЦМВ-болезни обусловлен тем, что мы строго придерживались международных критериев и не всегда теоретическое поражение органа цитомегаловирусом подтверждалось гистологически. Кроме того, не всегда применялись инвазивные методы диагностики (БАЛ / биопсия). Именно поэтому низкий процент ЦМВ-болезни по сравнению с данными литературы говорит лишь о низкой распространенности диагностических исследований при ЦМВ-инфекции.

В организме иммунный «контроль» над ЦМВ-инфекцией осуществляется посредством ЦМВ-специфичных CD4⁺ и CD8⁺ клеток [181, 210]. Однако, основополагающую роль в борьбе с инфекцией осуществляют именно CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты, а презентация антигенов ЦТЛ иммунодоминантными аллелями ЦМВ, представляющими эпитопы pp65 цитомегаловируса происходит посредством МНС класса I. В литературе мы не нашли публикаций, отражающих значимое влияние диагноза основного заболевания на реконституцию вирус-специфичного иммунитета. Наш анализ

также не продемонстрировал статистически значимое влияние диагноза основного заболевания на восстановление иммунитета. Как независимый фактор, влияющий на реконституцию, диагноз заболевания мы не рассматривали.

Существуют работы, описывающие, что ЦМВ-инфицированность среди женщин выше, что также говорит в пользу полученных нами результатов, а именно большего числа случаев ЦМВ-инфекции у женщин [58]. Наш анализ показал, что ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в зависимости от пола реципиента достоверно не отличается, однако ЦМВ-инфекция чаще развивается у женщин (81,9%, $p = 0,066$).

В настоящее время известно, что специфические аллели МНС класса I доминируют в презентации антигенов цитомегаловируса ЦТЛ, среди них наиболее часто встречаемыми аллелями ЦМВ, представляющими эпитопы pp65, являются HLA-A*01:01, -A*02:01, -B*07:02, -B*08:01, и -C*07:02 [109, 124, 204, 257].

Мы оценили влияние варианта молекулы HLA-A*02, HLA-B*07 на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета. В нашей работе было показано, что число вирус-специфичных клеток при вариантах HLA-A*02 и HLA-A*02/HLA-B*07 сопоставимо на всех исследуемых сроках после алло-ТГСК. Это говорит в пользу того, что для оценки реконституции ЦМВ-специфичного иммунитета может применяться любой из описанных вариантов молекул HLA. Однако, частота ЦМВ-инфекции выше в группе с HLA-A*02/B*07 (92,8%, $p = 0,02$). Из публикации Т. Kawase и соавт. известно, что часто встречаемые гаплотипы обладают иммунологическими преимуществами, такими как более сильная антигенпрезентирующая способность, и предположительно, что высокочастотные гаплотипы менее восприимчивы не только к ЦМВ-инфекции, но и потенциально ко многим другим инфекциям [121].

В мире частота выявления антител к антигенам ЦМВ в среднем составляет 83,1%, причем подавляющее число исследований проводилось на образцах крови здоровых донорах [13]. Такой высокий процент ЦМВ-серопозитивности обусловлен широким распространением цитомегаловируса в популяции, а инфицирование происходит преимущественно в детском возрасте [221].

В нашем исследовании ЦМВ-серопозитивность составила 77,7% среди доноров и 84,2% среди пациентов, что также сопоставимо с общей популяцией.

Мы определяли абсолютное число CD8+ ЦМВ-специфичных Т-клеток в периферической крови у пациентов на сроке +30, +90, +180 день после алло-ТГСК, а также проанализировали влияние различных факторов на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета и частоту развития ЦМВ-инфекции.

Неоднозначным остается вопрос о влиянии режима предтрансплантационного кондиционирования на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета. В одной работе показано влияние режима предтрансплантационного кондиционирования пониженной интенсивности на более высокую частоту возникновения поздней ЦМВ-инфекции [171], и в работе С. Junghanss и соавт. ЦМВ-болезнь после RIC чаще наблюдали после 100 дня, в то время как после MAC – преимущественно в ранний посттрансплантационный период [118]. Количество исследований, посвященных этой проблеме ограничено клиническими работами, в которых описано влияние режима кондиционирования на частоту развития ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни без лабораторной оценки абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-клеток [118, 171]. Как показано в этих работах, влияние режима предтрансплантационного кондиционирования на реконституцию иммунитета достоверно не доказано, несмотря на различия в токсичности используемых режимов.

В нашей работе мы также не показали влияние режима предтрансплантационного кондиционирования на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета. Нами показано, что режим предтрансплантационного кондиционирования не является достоверно значимым фактором, влияющим на реконституцию. Абсолютное число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) для MAC и для RIC, а также вероятность ЦМВ-инфекции ($p = 0,3$) были сопоставимы на всех сроках исследования.

Известно, что восстановление Т-клеточного иммунитета при применении СКК в качестве источника трансплантата требует назначения более токсичных

иммуносупрессивных агентов (ПТ-ЦФ, $\text{TCR}\alpha\beta$ -/ CD19 -деплегия), так как в трансплантате содержится большее число Т- и В-лимфоцитов, в 10 раз больше, по сравнению с костным мозгом по данным J. Storek и соавт. [224]. Донором часто является неродственный совместимый, неродственный частично совместимый, гаплоидентичный донор, в то время как КМ чаще применяют для родственной совместимой алло-ТГСК, не требующей интенсификации режимов профилактики РТПХ. Однако литературные данные отражают тот факт, что реконституция иммунитета при применении СКК происходит быстрее [117, 146].

В нашей работе мы также оценили влияние источника трансплантата на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета. Количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) при использовании КМ на сроках +30, +90, +180 день было достоверно выше по сравнению с СКК. Статистически значимые различия в количестве ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) отмечали на сроке +30 день ($p = 0,00072$), а вероятность развития ЦМВ-инфекции при использовании КМ и СКК сопоставима ($p = 0,98$). Несмотря на литературные данные, наши результаты вероятнее всего связаны с тем, что назначаемая «классическая» схема профилактики РТПХ при применении КМ (АТГ, ЦСА, ММФ, МТХ) вызывает менее выраженную лимфодеплецию и лимфопению по сравнению с высокодозным ПТ-ЦФ и $\text{TCR}\alpha\beta$ -/ CD19 -деплецией, применяемыми для СКК.

Вид донора для трансплантации на основании анализа множества литературных источников является значимым фактором, влияющим на реконституцию иммунитета. Опять же следует принимать во внимание иммуносупрессивную терапию после алло-ТГСК, определяемую исходя из вида донора и варианта трансплантации. Важным является степень несоответствия по HLA, а именно выбор несовместимого донора (неродственный частично совместимый, гаплоидентичный) требует применения более токсичных режимов профилактики РТПХ.

В некоторых работах, как, например, в публикации К. Takenaka и соавт., частота возникновения ЦМВ-инфекции была значимо выше после ТГСК от

неродственного донора ($p < 0,001$) [231]. В ряде работ показано, что частота развития ЦМВ-инфекции после гаплоидентичной ТГСК выше по сравнению с другими видами ТГСК, что также напрямую связано с режимом профилактики РТПХ [110, 137, 186, 233].

Наш анализ продемонстрировал, что наибольшее количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) отмечали при выполнении ТГСК от родственного совместимого донора. На +30 день наибольшее число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) наблюдали при выполнении алло-ТГСК от родственного совместимого донора (1,761 кл/мкл (0,265–7,746), $p < 0,001$). До +90 дня число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) при других видах ТГСК (ТГСК от неродственного совместимого, неродственного частично совместимого, гаплоидентичного донора) было низким ($p = 0,002$). К +180 дню отмечали иные результаты: для группы с неродственным совместимым донором количество ЦМВ-специфических Т-клеток составило 60,429 (16,960–112,318) против 41,505 кл/мкл (7,426–145,841) для группы с родственным совместимым донором. Наиболее низкие показатели ЦМВ-специфических Т-клеток с +30 по +180 день наблюдали в группе с гаплоидентичным донором. Стоит вновь отметить важность различий в режимах профилактики РТПХ в каждой из групп. При выполнении ТГСК от гаплоидентичного донора в качестве профилактики РТПХ применяют высокодозный ПТ-ЦФ и $\text{TCR}\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, которые обеспечивают выраженную лимфодеплецию, сохраняющуюся длительное время после трансплантации, и наш анализ подтвердил, что при этом виде ТГСК происходит отсроченная реконституция иммунитета. Для родственных совместимых ТГСК преимущественно применяют КМ, что не требует «усиления» режимов профилактики РТПХ. Таким образом, большее количество клеток в контрольные сроки наблюдается в группе родственных совместимых ТГСК, однако, тип донора как самостоятельный независимый фактор, влияющий на реконституцию, мы не выделяем.

Известно, что количество и функциональная активность ЦМВ-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов напрямую влияет на риск развития

ЦМВ-инфекции. Выбор режима иммуносупрессии и сопряженная с ним лимфопения является важным фактором, влияющим на реконституцию Т-клеточного иммунитета [227]. Анализ литературных данных показал, что Т-лимфодеплегия (*in vivo* Т-клеточная деплегия с АТГ [170], TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплегия, Т-клеточная деплегия с применением ПТ-ЦФ) является фактором, влияющим на отсроченную реконституцию иммунитета, и ассоциирована с высоким риском развития инфекционных осложнений после трансплантации [45, 147, 169]. Несмотря на связанные с Т-лимфодеплецией риски и осложнения, эти методики зарекомендовали себя в разных схемах профилактики РТПХ за счет своего выраженного иммуносупрессивного эффекта. Небольшое количество работ посвящено применению «двойного» подхода к Т-деплеции, то есть применение одновременно АТГ и ПТ-ЦФ [200]. В этих работах описана также высокая частота развития ЦМВ-инфекции (до 74%), а ЦМВ-болезнь отмечена только в 11% случаев [133].

Однако в нашей работе статистически значимой разницы по развитию ЦМВ-инфекции в зависимости от режима профилактики РТПХ получено не было ($p = 0,83$). Учитывая, что в рамках нашей работы акцент был сделан на количественное, а не функциональное восстановление числа ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл), влияние иммуносупрессивных агентов на функциональную активность ЦМВ-специфичных Т-клеток остается не выясненным.

Применение TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеции приводит к выраженной иммуносупрессии за счет «механического» удаления Т-клеток из трансплантата. У взрослых пациентов ввиду возрастной инволюции тимуса противоинфекционный иммунитет осуществляется за счет врожденного иммунитета, преимущественно за счет натуральных киллеров и γ/δ Т-клеток [14, 103, 168, 207], поэтому с этим режимом профилактики РТПХ связаны высокие показатели летальности в посттрансплантационный период, преимущественно за счет вирусных инфекций [47, 261].

Применение ПТ-ЦФ приводит к элиминация аллореактивных донорских Т-лимфоцитов *in vivo* и ассоциировано с более выраженной отсроченной реконституцией CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов и более высокой частотой инфекционных осложнений по сравнению с «классическими» схемами профилактики РТПХ [125, 184]. Так, по данным разных авторов частота развития ЦМВ-инфекции с режимами, включающими ПТ-ЦФ, составило 42,0–69,2% [75, 78, 93, 94].

Режимы профилактики РТПХ, включающие ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, продемонстрировали наименьшее количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на всех сроках исследования. Так, на +30 день: 0,052 кл/мкл (0,017–0,163) против 0,031 кл/мкл (0,000–0,119), соответственно, и аналогично на +90 день: 7,741 кл/мкл (1,373–40,015) против 0,918 кл/мкл (0,015–2,419), соответственно.

На +30 день статистически значимые различия в количестве ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) отмечали в группах с применением АТГ и ЦФ ($p = 0,0002$), в группах с АТГ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией ($p = 0,0015$), на +90 день – в группах пациентов с применением АТГ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецией ($p = 0,013$), к +180 дню различия сохранялись в группе с АТГ и ПТ-ЦФ ($p = 0,0067$) и АТГ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция ($p = 0,0042$).

Анализ литературных данных, а также результаты нашей работы показали, что выбор режима профилактики РТПХ является одним из наиболее важным факторов, влияющим на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета и являются предиктором развития инфекционных осложнений у пациентов после алло-ТГСК. ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция являются наиболее «высокоагрессивными» режимами профилактики РТПХ. Тем не менее, по нашим данным вероятность развития ЦМВ-инфекции в различных группа профилактики РТПХ не отличается ($p = 0,87$).

В публикациях преимущественно описана взаимосвязь серологического статуса пары Д / Р и частоты развития ЦМВ-инфекции. В нескольких работах отмечено, что статистически значимым фактором, влияющим на развитии ЦМВ-

инфекции, являлась ЦМВ-серопозитивность реципиента ($p < 0,001$) [220], что также описано и у детей ($p < 0,05$) [209]. Непосредственных работ, посвященных влиянию ЦМВ-статуса пары Д / Р на скорость восстановления ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета, нет.

Наш анализ показал, что достоверные различия в числе ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) отмечали на +90 день: для пары Д+ / Р+ на сроке +90 день число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) составило 7,501 (0,188–53,772), для Д+ / Р- 7,389 (3,703–11,076), что было достоверно выше относительно других групп ($p = 0,023$). Такие результаты вероятнее обусловлены тем, что, во-первых, возможен перенос ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) вместе с трансплантатом, во-вторых, тем, что резервуары ЦМВ реципиента вследствие массивного клеточного повреждения после предтрансплантационного кондиционирования, а также длительной иммуносупрессивной терапии, высвобождают цитомегаловирус, создавая некоторый пул ЦМВ-специфичных CD8+ Т-лимфоцитов.

Самые низкие показатели абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-клеток на всех исследуемых сроках отмечали в группе Д- / Р-. В связи с этим пациенты из группы Д- / Р- наиболее подвержены риску развития ЦМВ-инфекции.

В зависимости от серологического статуса пары донор-реципиент мы оценили вероятность развития ЦМВ-инфекции, и она была сопоставима ($p = 0,23$). В группах с инфицированным реципиентом (Д- / Р+, Д+ / Р+) ЦМВ-инфекция определялась преимущественно на ранних сроках после алло-ТГСК. ЦМВ-инфекция в группе Д- / Р- развилась в 25% случаев, что вероятно обусловлено или инфицированием после трансплантации, или исходно неточной идентификацией серологического статуса донора или реципиента до алло-ТГСК.

Таким образом, инфицированность ЦМВ у донора и реципиента являются одним из наиболее важных факторов, влияющим на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета, однако частота ЦМВ-инфекции в зависимости от серологического статуса пары Д / Р значимо не различается.

Наш анализ, как и литературные данные, показывает, что высокую частоту развития ЦМВ-инфекции наблюдают в раннем посттрансплантационном периоде (до +100 дня) [69, 220, 251]. Высокая частота ЦМВ-инфекции в группах, где пациент ЦМВ-серопозитивен (Д- / Р+, Д+ / Р+) обусловлена, во-первых, тем, что вследствие кондиционирования и химиотерапии любой интенсивности, происходит разрушение клеток-резервуаров и высвобождение цитомегаловируса, и, во-вторых, выраженной CD4+, CD8+ Т-лимфопенией, вызванной иммуносупрессивной терапией.

Фактором риска развития ЦМВ-инфекции также является ЦМВ-серопозитивность донора, особенно для тех пациентов, которые не имеют антител к ЦМВ (Д+ / Р-), так как риск инфекции ассоциирован с передачей цитомегаловируса вместе с трансплантатом опять же через клетки-резервуары ЦМВ.

Таким образом, мы подтвердили результаты зарубежных исследователей, показывающих взаимосвязь ЦМВ-инфицированности реципиента и зачастую донора и высокую частоту выявления ЦМВ-инфекции, а также мы делаем вывод, что ЦМВ-серопозитивность донора и реципиента ассоциированы с высокой частотой развития ЦМВ-инфекции преимущественно на ранних сроках после трансплантации (до +100 дня).

Взаимное влияние РТПХ и ЦМВ-инфекции друг на друга описано во многих публикациях. С одной стороны, инфицированные цитомегаловирусом эндотелиальные клетки продуцируют провоспалительные цитокины, которые имеют значение в начальной фазе развития РТПХ, а с другой стороны, назначение для терапии РТПХ иммуносупрессивной терапии ассоциировано с высоким риском развития ЦМВ-инфекции [44, 229]. Было показано, что более тяжелые степени острой РТПХ сопровождаются более высокими дозами иммуносупрессантов, в частности, высокими дозами ГКС, и в этом случае риск развития ЦМВ-инфекции составляет 61%, что выше, чем при острой РТПХ I степени без назначения ГКС – 35% [44].

В нашей работы мы оценили количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на сроках +30, +90, +180 дней после трансплантации в зависимости от развития острой РТПХ и достоверных различий мы не обнаружили. Вероятность ЦМВ-инфекции в случае оРТПХ составила 79% против 67,3% в группе, где не было оРТПХ ($p = 0,7$).

Мы оценили число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на последующих контрольных точках у пациентов, которым начали ИСТ по поводу оРТПХ до +90 дня. Исходно к +30 дню число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) в исследуемых группах было сопоставимо. Однако, в группе с оРТПХ, когда интенсификацию иммуносупрессии выполняли в период с +30 по +90 день, на следующих контрольных точках исследования число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) было ниже. Несмотря на это вероятность развития ЦМВ-инфекции в зависимости от дебюта оРТПХ статистических различий не имела ($p = 0,7$).

В последние годы отдельное место занимает адоптивная терапия, которая включает в себя трансфузию ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов донора [193]. Донором для этой процедуры может являться как донор стволовых клеток, так и альтернативный донор [68, 88, 104, 135]. В ходе нашего исследования мы получили результаты, показывающие, что наиболее выраженный Т-клеточный иммунодефицит отмечали у пациентов с использованием СКК в качестве источника трансплантата и ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию в качестве режима профилактики РТПХ. Также мы проанализировали иммунологическую эффективность выполнения трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов и ее влияние на восстановление ЦМВ-специфичных Т-клеток на сроках +30, +90, +180 дней после трансплантации. Трансфузию ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов (ЦМВ-ТЛД) выполнили 17 пациентам (15,7%) с «высокоагрессивными» режимами профилактики РТПХ (ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция) и с применением СКК в качестве источника трансплантата. ЦМВ-ТЛД выполняли после +30 дня при условии констатации приживления трансплантата с определением донорского химеризма. Мы провели оценку абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов в группе с ЦМВ-ТЛД, а также в группе пациентов ($n = 47$) с аналогичными режимами профилактики РТПХ (ПТ-ЦФ и

TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеция), но не получивших трансфузию ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл). В группе пациентов, которым выполнялась трансфузия ЦМВ-специфичных лимфоцитов, количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на +90 день было значимо выше по сравнению с группой без трансфузии ($p = 0,013$), что позволяет сделать вывод об эффективности выполнения трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов у пациентов с «высокоагрессивными» режимами профилактики РТПХ на ранних сроках после алло-ТГСК.

В литературе нами не было обнаружено публикаций, оценивающих непосредственно число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на разных сроках после трансплантации, поэтому сопоставить наши данные с мировыми мы не можем. Несмотря на это, как демонстрируют разные авторы, выполнение трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов с одной стороны позволяет ускорить восстановление ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у пациентов после алло-ТГСК, а с другой – осуществлять подавление репликации цитомегаловируса, уменьшая при этом длительность приема противовирусных препаратов и риски, связанные с их побочными явлениями [119, 235].

Заключительным этапом, на основании предыдущего анализа и определения основных факторов, влияющих на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета и вероятность ЦМВ-инфекции, мы определили, что наиболее иммунокомпromетированная группа пациентов после алло-ТГСК – это пациенты, получившие ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию в режим профилактики РТПХ. Наиболее высокую вероятность развития ЦМВ-инфекции наблюдали у серопозитивных (HR–5,9) реципиентов женского пола, получивших трансплантацию от женщин (HR–2,49) с генотипом HLA-A*02/B*07 (HR–2,54).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на внедрение подходов, направленных на мониторинг, назначение профилактической, превентивной и этиотропной терапии, ЦМВ-инфекция до сих пор является одним из наиболее частых и жизнеугрожающих осложнений у пациентов после алло-ТГСК.

Наш анализ показал, что выявление ЦМВ-инфекции у пациентов после алло-ТГСК наблюдали преимущественно на ранних сроках после трансплантации (медиана 49 дней) с высокой вероятностью до 71,4%.

Контроль над ЦМВ-инфекцией в организме осуществляется посредством CD4⁺ и, в особенности, CD8⁺ ЦМВ-специфичных Т-клеток (ЦМВ-специфичных цитотоксических лимфоцитов), которые после первичного инфицирования обеспечивают поддержание определенного пула (числа) вирус-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов, сохраняющихся пожизненно, в том числе и в латентную фазу ЦМВ-инфекции.

В ходе нашей работы по изучению реконституции ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета на сроках +30, +90, +180 дни после алло-ТГСК ключевым объектом исследования мы выделили абсолютное число CD8⁺ ЦМВ-специфичных Т-клеток в периферической крови пациентов, а также мы проанализировали влияние различных факторов на реконституцию вирус-специфичного иммунитета и частоту развития ЦМВ-инфекции.

Наш анализ продемонстрировал, что диагноз основного заболевания, вариант молекулы HLA-A*02, HLA-B*07, пол и режим предтрансплантационного кондиционирования не оказывают достоверно значимого влияния на реконституцию ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл). Применение костного мозга в качестве источника трансплантата ассоциировано с большим числом CD8⁺ ЦМВ-специфичных Т-клеток на ранних сроках после трансплантации по сравнению со стволовыми клетками, а именно на сроке +30 день ($p = 0,00072$). Наши результаты коррелируют с тем фактом, что использование СКК в качестве источника

трансплантата сопряжено с интенсификацией иммуносупрессии, а костный мозг преимущественно используют для родственных совместимых алло-ТГСК, где для профилактики РТПХ применяют «классические» режимы.

Выбор донора мы также рассматривали в совокупности с применяемой иммуносупрессией для каждого из видов алло-ТГСК. Так, наибольшее абсолютное число ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов отмечали после родственных совместимых алло-ТГСК, что оказалось статистически значимым для +30 дня ($p = 0,001$), +90 дня ($p = 0,002$), +180 дня ($p = 0,011$) и связано с применением «классических» схем иммуносупрессии. После родственных гаплоидентичных ТГСК, куда включены пациенты с ПТ-ЦФ и $TCR\alpha\beta$ -/CD19-деплецией, доля ЦМВ-специфичных Т-клеток была значимо ниже относительно других исследуемых групп и сохранялась критически низкой на протяжении всего периода исследования вплоть до +180 дня. Внедрение ПТ-ЦФ в режим профилактики РТПХ также проводили пациентам после неродственных совместимых и несовместимых ТГСК. У этой когорты больных прирост числа ЦМВ-специфичных Т-клеток наблюдали только к +180 дню. Наши результаты демонстрируют, что непосредственно вид донора напрямую не влияет на скорость восстановления ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета.

Наша работа показала, что при применении «высокоагрессивных» режимов профилактики РТПХ, включающих ПТ-ЦФ и $TCR\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) достоверно ниже на +30, +90, +180 день после алло-ТГСК. Применение АТГ продемонстрировало большее число ЦМВ-специфических Т-клеток на всех контрольных точках, что говорит лишь о недостаточной способности данного агента к лимфоабляции. Таким образом, наиболее значимым фактором, оказывающим влияние на скорость реконституции ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета, мы выделили режим профилактики РТПХ.

Применение высокодозных токсичных иммуносупрессивных агентов ассоциировано с наиболее низким количеством ЦМВ-специфичных Т-клеток вплоть до +180 дня. Включение АТГ в режим профилактики РТПХ демонстрирует

наилучшее восстановление ЦМВ-специфичных Т-клеток на всех контрольных точках и достигает максимального количества на +180 сут после алло-ТГСК по сравнению с другими режимами иммуносупрессии. Таким образом, мы определили, что наиболее иммунокомпromетированная группа пациентов после алло-ТГСК – это пациенты, получившие ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию.

Другим важным фактором, значимо влияющим на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета, мы выделили серологический статус пары Д / Р на этапе до алло-ТГСК. Самые низкие показатели абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-клеток на всех исследуемых сроках отмечали в группе Д- / Р-.

Наше исследование включало также оценку эффективности трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета. ЦМВ-ТЛД выполнили 17 пациентам, которым применяли ПТ-ЦФ и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию в качестве режима профилактики РТПХ и СКК в качестве источника трансплантата. Далее проводили сравнительный анализ количества ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) с группой пациентов с подобными режимами профилактики РТПХ и источником трансплантата (n = 47), но которым ЦМВ-ТЛД не проводили. В группе пациентов с ЦМВ-ТЛД число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на +90 день было значимо больше по сравнению с группой без трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов (p = 0,013). Таким образом, мы приходим к выводу, что выполнение трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов эффективно влияет на реконституцию ЦМВ-специфичного иммунитета у пациентов с «высокоагрессивными» режимами профилактики РТПХ на ранних сроках после алло-ТГСК.

В работе проведен многофакторный подход к оценке абсолютного числа ЦМВ-специфичных Т-клеток у пациентов и их взаимосвязь с развитием ЦМВ-инфекции на разных сроках после алло-ТГСК. Показано, что на вероятность ЦМВ-инфекции преимущественно влияет пол пары Д / Р. Так, в случае, когда донор женщина, вероятность ЦМВ инфекции выше (81,9%, p = 0,066). При варианте HLA-A*02/B*07 частота ЦМВ-инфекции также достоверно выше (p =

0,02). ЦМВ-серопозитивность реципиента ассоциирована с большей вероятностью развития ЦМВ-инфекции на ранних сроках после алло-ТГСК, которая составила 77% для пары Д+ / Р+ и 64,9% для Д- / Р+ ($p = 0,23$).

ВЫВОДЫ

1. Вероятность развития ЦМВ-инфекции в первые 180 дней после алло-ТГСК составляет 71,4% (медиана 49 дней). Такие трансплантационные факторы как режим предтрансплантационного кондиционирования ($p = 0,48$), источник трансплантата ($p = 0,98$), вид донора ($p = 0,83$), режим профилактики реакции «трансплантат против хозяина» ($p = 0,87$) значимого влияния на вероятность развития ЦМВ-инфекции не оказывают.

2. Показано, что при ЦМВ-серопозитивности пары донор / реципиент количество ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов на всех сроках исследования значимо выше, чем в других группах, и составляет на +30 день – 0,115 кл/мкл (0,027–1,548), на +90 день – 7,501 кл/мкл (0,188–53,772), на +180 день – 18,974 кл/мкл (1,160–59,919). Вариант HLA, пол реципиента не влияют на абсолютное число ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, однако вероятность ЦМВ-инфекции при генотипе HLA-A*02/B*07 и в случае, если реципиент женского пола, значимо выше и составляет 92,8% и 80,2% , соответственно ($p < 0,05$);

3. При применении в режиме профилактики реакции «трансплантат против хозяина» посттрансплантационного циклофосфида и TCR $\alpha\beta$ -/CD19 деплеции наблюдали значимо меньшее количество ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов на +30 день – 0,059 кл/мкл (0,024–0,355) и 0,031 кл/мкл (0,000–0,119), соответственно, по сравнению с режимами профилактики на основе АТГ – 1,338 кл/мкл (0,183–7,551), ($p < 0,001$). Режим предтрансплантационного кондиционирования влияния на количество ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток не оказывает.

4. Установлено, что после «высокоагрессивных» режимов профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (посттрансплантационный циклофосфид, TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплегия) наблюдается наиболее глубокий

дефицит ЦМВ-специфичных Т-клеток. К группе же с наиболее высоким риском развития ЦМВ-инфекции относятся серопозитивные (HR–5,9) реципиенты женского пола, получившие трансплантацию от донора женского пола (HR–2,49) с генотипом HLA-A*02/B*07 (HR–2,54).

5. Продемонстрирована иммунологическая эффективность трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с использованием «высокоагрессивных» режимов профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (посттрансплантационный циклофосфамид, TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплегция). После трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов абсолютное число ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов на +90 день после трансплантации значимо выше в группе с трансфузией донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов по сравнению с группой без трансфузии (7,516 кл/мкл (1,865–43,985) против 0,092 (0,01–3,67), $p = 0,013$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обсуждение протоколов мониторинга, профилактики и превентивной терапии ЦМВ-инфекции должно проводиться трансплантационным центром, а протоколы мониторинга ЦМВ-инфекции должны применяться индивидуально для пациентов после трансплантации, в том числе и для реципиентов женского пола, имеющих донора женского пола с генотипом HLA-A*02/B*07.
2. Донором для ЦМВ-серонегативного пациента должен рассматриваться ЦМВ-серонегативный донор для уменьшения вероятности инфицирования реципиента уже после трансплантации.
3. Пациентам, которым в качестве режима профилактики реакции «трансплантат против хозяина» применяют посттрансплантационный циклофосфамид и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, оправдано выполнение трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов до +100 дня после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АА – апластическая анемия

алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

АПК – антигенпрезентирующие клетки

АТГ – антитимоцитарный глобулин

БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

гаплоТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичного донора

ГСК – гемопоэтические стволовые клетки

ГКС – глюкокортикостероиды

Д / Р – пара донор / реципиент

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИЛ (=IL) – интерлейкин

ИСТ – иммуносупрессивная терапия

ИТК – ингибитор протеинкиназы

ИФА – иммуноферментный анализ

КМ – костный мозг

кл/мкл – число клеток в микролитре

МДС – миелодиспластический синдром

ММФ – микофенолата мофетил

МТХ – метотрексат

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОРТПХ – острая реакция «трансплантат против хозяина»

пМНС – комплекс пептид-МНС

ПМФ – первичный миелофиброз

ПТ-ЦФ – посттрансплантационный циклофосфамид

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РТПО – реакция «трансплантат против опухоли»

РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»

СКК – стволовые клетки крови

ТКР – Т-клеточный рецептор

ТЛД – трансфузия лимфоцитов донора

ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ФГБУ НМИЦ гематологии – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ХЛЛ – хронический лимфолейкоз

ХМЛ – хронический миелолейкоз

ХММЛ – хронический миеломоноцитарный лейкоз

ЦМВ – цитомегаловирус

ЦМВ-инфекция – цитомегаловирусная инфекция

ЦМВ-ТЛД – трансфузия ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов донора

ЦМВ-ЦТЛ – ЦМВ-специфичные цитотоксические лимфоциты

ЦСА – циклоспорин А

ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты

ЦФ – циклофосфамид

ЭДТА (=EDTA) – этилендиаминтетрауксусная кислота

AB0 – система группы крови

Anti-CMV-IgG – антитела класса IgG к цитомегаловирусу

Anti-CMV-IgM – антитела класса IgM к цитомегаловирусу

BSA – Bovine Serum Albumin (раствор альбумина бычьего сывороточного)

CD – (cluster of differentiation) кластер дифференцировки

CMV– cytomegalovirus (цитомегаловирус)

Delayed-early – отложенная ранняя фаза ЦМВ-инфекции

EBMT– European Bone Marrow Transplantation (Европейское общество по трансплантации костного мозга)

ECIL – European Conference of infections in Leukaemia and infectious diseases (Европейская конференция по инфекциям при лейкемии)

ELISPOT – Enzyme-Linked ImmunoSpot (иммуноферментный анализ для детекции секретируемых белков)

HLA – Human Leukocyte Antigens (человеческий лейкоцитарный антиген)

IE – immediate-early (ранняя фаза ЦМВ-инфекции)

IFN- γ – интерферон-гамма

IgM – immunoglobulin M (иммуноглобулин класса M)

IgG – immunoglobulin G (иммуноглобулин класса G)

MAC – myeloablative conditioning (миелоаблативный режим кондиционирования)

MHC – major histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)

NK-клетки – natural killer cells (натуральные киллеры)

PBS – phosphate buffered saline (фосфатно-солевом буфере)

pp65 – phosphoprotein 65 (фосфопротеин 65)

RIC – reduced intensity conditioning (режим кондиционирования пониженной интенсивности)

RL – длинный инвертированный повтор

RS – короткий инвертированный повтор

SFU – spot-forming units (точечно-образующие единицы)

TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплегция – деплегция альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-деплегция

The CMV Drug Development Forum – рабочая группа по изучению лекарственных препаратов против ЦМВ-инфекции

TNF- α – фактор некроза опухоли-альфа

Tregs – регуляторные Т-клетки

UL – уникальный длинный регион

US – уникальный короткий регион

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богоявленская А.А. Герпес-вирусные инфекции у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с TCR $\alpha\beta$ 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 – 2017. – Т. 16 – № 1 – С.10–21.
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. Васильева В.А. Выполнение трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров из Российского и зарубежного регистров в одном трансплантационном центре / Васильева В.А., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н., Дроков М.Ю., Дмитрова А.А., Старикова О.С., Хамаганова Е.Г., Бидерман Б.В., Ахремцова А.А., Гапонова Т.В., Менделеева Л.П., Савченко В.Г. // Гематология и трансфузиология – 2020. – Т. 65 – № 3 – С.299–311.
4. Демин М.В. Мутации в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Глинщикова О.А., Дроков М.Ю., Судариков А.Б., Туполева Т.А., Филатов Ф.П. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия – 2020. – Т. 21 – № 4 – С.352–357.
5. Дроков М.Ю. Факторы риска повторных госпитализаций после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / Дроков М.Ю., Дмитрова А.А., Кузьмина Л.А., Васильева В.А., Михальцова Е.Д., Королева О.М., Усикова Е.В., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. // Клиническая онкогематология – 2020. – Т.

13 – № 1 – С.89–94.

6. Кузьмина Л.А. Повторная трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных гемобластозами / Кузьмина Л.А., Конова З.В., Паровичникова Е.Н., Дроков М.Ю., Васильева В.А., Попова Н.Н., Савченко В.Г. // Гематология и трансфузиология – 2019. – Т. 64 – № 1 – С.35–48.
7. Любимова Л.С. Трансплантация аллогенного костного мозга при хроническом миелолейкозе / Любимова Л.С., Савченко В.Г., Менделеева Л.П., Кузьмина Л.А., Анухина М.В., Грибанова Е.О., Демидова И.А., Мисюрин А.В., Виноградова О.А., Домрачева Е.В., Порешина Л.П., Кутьина Р.М., Шпакова А.П., Матвеев А.А., Калинин Н.Н., Гемджян Э.Г. // Терапевтический архив – 2004. – Т. 79 – № 7 – С.18–24.
8. Савченко В.Г. Цитомегаловирусная инфекция у больных гемобластозами / Савченко В.Г., Троицкая В.В., Мисюрин А.В., Паровичникова Е.Н., Исаев В.Г., Менделеева Л.П., Любимова Л.С., Демидова И.А., Аксенова Е.В., Филатов Ф.П., Гаранжа Т.А., Устинова Е.Н., Грибанова Е.О., Галстян Г.М. // Терапевтический архив – 2003. – Т. 78 – № 7 – С.52–58.
9. Троицкая В.В. Диагностика и лечение цитомегаловирусной инфекции у больных гемобластозами : дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.29 / Троицкая Вера Витальевна. — М., 2004. — 154 с.
10. Тихомиров Д.С. Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций у гематологических больных : дисс. ... канд. биол. наук : 14.00.29, 03.00.06 / Тихомиров Дмитрий Сергеевич.— М., 2009. — 142с.
11. Jeljeli M. Relationship between cytomegalovirus (CMV) reactivation, CMV-driven immunity, overall immune recovery and graft-versus-leukaemia effect in children / Jeljeli M., Guérin-El Khourouj V., Porcher R., Fahd M., Leveillé S., Yakouben K., Ouachée-Chardin M., LeGoff J., Cordeiro D.J., Pédrón B., Baruchel A., Dalle J.-H., Sterkers G. // British Journal of Haematology – 2014. – Т. 166 – № 2 – С.229–239.
12. Abdel-Azim H. Humoral Immune Reconstitution Kinetics after Allogeneic

Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children: A Maturation Block of IgM Memory B Cells May Lead to Impaired Antibody Immune Reconstitution / Abdel-Azim H., Elshoury A., Mahadeo K.M., Parkman R., Kapoor N. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2017. – T. 23 – № 9 – C.1437–1446.

13. Adane T. Cytomegalovirus seroprevalence among blood donors: a systematic review and meta-analysis / Adane T., Getawa S. // *Journal of International Medical Research* – 2021. – T. 49 – № 8 – C.030006052110346.

14. Airoidi I. $\gamma\delta$ T-cell reconstitution after HLA-haploidentical hematopoietic transplantation depleted of TCR- $\alpha\beta$ + / CD19+ lymphocytes / Airoidi I., Bertaina A., Prigione I., Zorzoli A., Pagliara D., Cocco C., Meazza R., Loiacono F., Lucarelli B., Bernardo M.E., Barbarito G., Pende D., Moretta A., Pistoia V., Moretta L., Locatelli F. // *Blood* – 2015. – T. 125 – № 15 – C.2349–2358.

15. Albekairy A.M. Prophylaxis of Cytomegalovirus Infection in Solid Organ Transplantation, Retrospective Evaluation / Albekairy A.M., Shawaqfeh M.S., Alharbi S.H., Almuqbil F., Alghamdi M.A., Albekairy N.A., Muflih S.M., Alkatheri A. // *Transplant Research and Risk Management* – 2022. – T. Volume 14 – C.35–45.

16. Aljumaili Z.K.M. Cytomegalovirus seroprevalence in women with bad obstetric history in Kirkuk, Iraq / Aljumaili Z.K.M., Alsamarai A.M., Najem W.S. // *Journal of Infection and Public Health* – 2014. – T. 7 – № 4 – C.277–288.

17. Alonso-Álvarez S. Cytomegalovirus in Haematological Tumours / Alonso-Álvarez S., Colado E., Moro-García M.A., Alonso-Arias R. // *Frontiers in Immunology* – 2021. – T. 12 – C.4058.

18. Altman G.H. Silk-based biomaterials / Altman G.H., Diaz F., Jakuba C., Calabro T., Horan R.L., Chen J., Lu H., Richmond J., Kaplan D.L. // *Biomaterials* – 2003. – T. 24 – № 3 – C.401–416.

19. Asano-Mori Y. Clinical features of late cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation / Asano-Mori Y., Kanda Y., Oshima K., Kako S., Shinohara A., Nakasone H., Sato H., Watanabe T., Hosoya N., Izutsu K., Asai T.,

Hangaishi A., Motokura T., Chiba S., Kurokawa M. // *International Journal of Hematology* – 2008. – T. 87 – № 3 – C.310–318.

20. Asanuma H. Role of Milk Whey in the Transmission of Human Cytomegalovirus Infection by Breast Milk / Asanuma H., Numazaki K., Nagata N., Hotsubo T., Horino K., Chiba S. // *Microbiology and Immunology* – 1996. – T. 40 – № 3 – C.201–204.

21. Atabani S.F. Cytomegalovirus Replication Kinetics in Solid Organ Transplant Recipients Managed by Preemptive Therapy / Atabani S.F., Smith C., Atkinson C., Aldridge R.W., Rodriguez-Perálvarez M., Rolando N., Harber M., Jones G., O’Riordan A., Burroughs A.K., Thorburn D., O’Beirne J., Milne R.S.B., Emery V.C., Griffiths P.D. // *American Journal of Transplantation* – 2012. – T. 12 – № 9 – C.2457–2464.

22. Auletta J.J. Immune restoration following hematopoietic stem cell transplantation: an evolving target / Auletta J.J., Lazarus H.M. // *Bone Marrow Transplantation* – 2005. – T. 35 – № 9 – C.835–857.

23. Bacigalupo A. Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions / Bacigalupo A., Ballen K., Rizzo D., Giralt S., Lazarus H., Ho V., Apperley J., Slavin S., Pasquini M., Sandmaier B.M., Barrett J., Blaise D., Lowski R., Horowitz M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2009. – T. 15 – № 12 – C.1628–1633.

24. Baker M. Comparative Outcomes after Haploidentical or Unrelated Donor Bone Marrow or Blood Stem Cell Transplantation in Adult Patients with Hematological Malignancies / Baker M., Wang H., Rowley S.D., Cai L., Pecora A.L., Skarbnik A., Vesole D.H., Adler-Brecher B., Kim D., Donato M.L. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2016. – T. 22 – № 11 – C.2047–2055.

25. Balashov D. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCR $\alpha\beta$ and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes / Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L., Laberko A., Livshits A., Novichkova G., Maschan A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2015. – T. 21 – № 11 – C.1955–1962.

26. Barabas S. An optimized IFN- γ ELISpot assay for the sensitive and standardized monitoring of CMV protein-reactive effector cells of cell-mediated immunity / Barabas S., Spindler T., Kiener R., Tonar C., Lugner T., Batzilla J., Bendfeldt H., Rascle A., Asbach B., Wagner R., Deml L. // *BMC Immunology* – 2017. – T. 18 – № 1 – C.14.
27. Baron F. Unrelated Donor Status and High Donor Age Independently Affect Immunologic Recovery after Nonmyeloablative Conditioning / Baron F., Storer B., Maris M.B., Storek J., Piette F., Metcalf M., White K., Sandmaier B.M., Maloney D.G., Storb R., Boeckh M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2006. – T. 12 – № 11 – C.1176–1187.
28. Behrendt C.E. Donor and Recipient CMV Serostatus and Outcome of Pediatric Allogeneic HSCT for Acute Leukemia in the Era of CMV-Preemptive Therapy / Behrendt C.E., Rosenthal J., Bolotin E., Nakamura R., Zaia J., Forman S.J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2009. – T. 15 – № 1 – C.54–60.
29. Beninga J. Comparative analysis of fourteen individual human cytomegalovirus proteins for helper T cell response / Beninga J., Kropff B., Mach M. // *Journal of General Virology* – 1995. – T. 76 – № 1 – C.153–160.
30. Bertaina A. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of $\alpha\beta^+$ T and B cells in children with nonmalignant disorders / Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R., Pende D., Falco M., Handgretinger R., Moretta F., Lucarelli B., Brescia L.P., Li Pira G., Testi M., Cancrini C., Kabbara N., Carsetti R., Finocchi A., Moretta A., Moretta L., Locatelli F. // *Blood* – 2014. – T. 124 – № 5 – C.822–826.
31. Bhat V. Cytomegalovirus infection in the bone marrow transplant patient / Bhat V. // *World Journal of Transplantation* – 2015. – T. 5 – № 4 – C.287.
32. Blazar B.R. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy / Blazar B.R., Murphy W.J., Abedi M. // *Nature Reviews Immunology* – 2012. – T. 12 – № 6 – C.443–458.
33. Blyth E. Donor-derived CMV-specific T cells reduce the requirement for CMV-

- directed pharmacotherapy after allogeneic stem cell transplantation / Blyth E., Clancy L., Simms R., Ma C.K.K., Burgess J., Deo S., Byth K., Dubosq M.-C., Shaw P.J., Micklethwaite K.P., Gottlieb D.J. // *Blood* – 2013. – T. 121 – № 18 – C.3745–3758.
34. 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.
35. Boeckh M. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: current status, known challenges, and future strategies / Boeckh M., Nichols W.G., Papanicolaou G., Rubin R., Wingard J.R., Zaia J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2003. – T. 9 – № 9 – C.543–558.
36. Boeckh M. The impact of cytomegalovirus serostatus of donor and recipient before hematopoietic stem cell transplantation in the era of antiviral prophylaxis and preemptive therapy / Boeckh M., Nichols W.G. // *Blood* – 2004. – T. 103 – № 6 – C.2003–2008.
37. Boeckh M. How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients / Boeckh M., Ljungman P. // *Blood* – 2009. – T. 113 – № 23 – C.5711–5719.
38. Boeckh M. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle / Boeckh M., Geballe A.P. // *Journal of Clinical Investigation* – 2011. – T. 121 – № 5 – C.1673–1680.
39. Boucoiran I. Nonprimary Maternal Cytomegalovirus Infection After Viral Shedding in Infants / Boucoiran I., Mayer B.T., Krantz E.M., Marchant A., Pati S., Boppana S., Wald A., Corey L., Casper C., Schiffer J.T., Gantt S. // *Pediatric Infectious Disease Journal* – 2018. – T. 37 – № 7 – C.627–631.
40. Bravo A.M. Infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children in a bone marrow transplant unit in Colombia / Bravo A.M., Arango J., Ramirez O., Portilla C.A., López P., Calle J.P., López-Medina E. // *Transplant Infectious Disease* – 2021. – T. 23 – № 2 – C.e13498.

41. Brown J.A. Clearance of CMV viremia and survival after double umbilical cord blood transplantation in adults depends on reconstitution of thymopoiesis / Brown J.A., Stevenson K., Kim H.T., Cutler C., Ballen K., McDonough S., Reynolds C., Herrera M., Liney D., Ho V., Kao G., Armand P., Koreth J., Alyea E., McAfee S., Attar E., Dey B., Spitzer T., Soiffer R., Ritz J., Antin J.H., Boussiotis V.A. // *Blood* – 2010. – T. 115 – № 20 – C.4111–4119.
42. Bunchorntavakul C. Epstein-Barr Virus and Cytomegalovirus Infections of the Liver / Bunchorntavakul C., Reddy K.R. // *Gastroenterology Clinics of North America* – 2020. – T. 49 – № 2 – C.331–346.
43. Campos C. Effect of age and CMV on NK cell subpopulations / Campos C., Pera A., Sanchez-Correa B., Alonso C., Lopez-Fernandez I., Morgado S., Tarazona R., Solana R. // *Experimental Gerontology* – 2014. – T. 54 – C.130–137.
44. Cantoni N. Evidence for a Bidirectional Relationship between Cytomegalovirus Replication and acute Graft-versus-Host Disease / Cantoni N., Hirsch H.H., Khanna N., Gerull S., Buser A., Bucher C., Halter J., Heim D., Tichelli A., Gratwohl A., Stern M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2010. – T. 16 – № 9 – C.1309–1314.
45. Cavazzana-Calvo M. Long-term T-cell reconstitution after hematopoietic stem-cell transplantation in primary T-cell-immunodeficient patients is associated with myeloid chimerism and possibly the primary disease phenotype / Cavazzana-Calvo M., Carlier F., Deist F. Le, Morillon E., Taupin P., Gautier D., Radford-Weiss I., Caillat-Zucman S., Neven B., Blanche S., Cheynier R., Fischer A., Hacein-Bey-Abina S. // *Blood* – 2007. – T. 109 – № 10 – C.4575–4581.
46. Chaer F. El How I treat resistant cytomegalovirus infection in hematopoietic cell transplantation recipients / Chaer F. El, Shah D.P., Chemaly R.F. // *Blood* – 2016. – T. 128 – № 23 – C.2624–2636.
47. Chakrabarti S. High incidence of cytomegalovirus infection after nonmyeloablative stem cell transplantation: potential role of Campath-1H in delaying immune reconstitution / Chakrabarti S., Mackinnon S., Chopra R., Kottaridis P.D., Peggs K., O’Gorman P., Chakraverty R., Marshall T., Osman H., Mahendra P., Craddock C.,

- Waldmann H., Hale G., Fegan C.D., Yong K., Goldstone A.H., Linch D.C., Milligan D.W. // *Blood* – 2002. – T. 99 – № 12 – C.4357–4363.
48. Chang Y.-J. Immune Reconstitution Following Unmanipulated HLA-Mismatched/Haploidentical Transplantation Compared with HLA-Identical Sibling Transplantation / Chang Y.-J., Zhao X.-Y., Huo M.-R., Xu L.-P., Liu D.-H., Liu K.-Y., Huang X.-J. // *Journal of Clinical Immunology* – 2012. – T. 32 – № 2 – C.268–280.
49. Chatzidimitriou D. Hematopoietic cell transplantation and emerging viral infections / Chatzidimitriou D., Gavriilaki E., Sakellari I., Diza E. // *Journal of Medical Virology* – 2010. – T. 82 – № 3 – C.528–538.
50. Chemaly R.F. CMV Prophylaxis in Hematopoietic-Cell Transplantation / Chemaly R.F., Ullmann A.J., Ehninger G. // *New England Journal of Medicine* – 2014. – T. 371 – № 6 – C.576–577.
51. Chemaly R.F. Definitions of Resistant and Refractory Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Recipients for Use in Clinical Trials / Chemaly R.F., Chou S., Einsele H., Griffiths P., Avery R., Razonable R.R., Mullane K.M., Kotton C., Lundgren J., Komatsu T.E., Lischka P., Josephson F., Douglas C.M., Umeh O., Miller V., Ljungman P. // *Clinical Infectious Diseases* – 2019. – T. 68 – № 8 – C.1420–1426.
52. Chen K. Antiviral prophylaxis for cytomegalovirus infection in allogeneic hematopoietic cell transplantation / Chen K., Cheng M.P., Hammond S.P., Einsele H., Marty F.M. // *Blood Advances* – 2018. – T. 2 – № 16 – C.2159–2175.
53. Cho S.-Y. Cytomegalovirus Infections after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Current Status and Future Immunotherapy / Cho S.-Y., Lee D.-G., Kim H.-J. // *International Journal of Molecular Sciences* – 2019. – T. 20 – № 11 – C.2666.
54. Ciáurriz M. The immune response to cytomegalovirus in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients / Ciáurriz M., Zabalza A., Beloki L., Mansilla C., Pérez-Valderrama E., Lachén M., Bandrés E., Olavarría E., Ramírez N. // *Cellular and Molecular Life Sciences* – 2015. – T. 72 – № 21 – C.4049–4062.
55. 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.
56. Clave E. Thymic function recovery after unrelated donor cord blood or T-cell depleted HLA-haploidentical stem cell transplantation correlates with leukemia relapse / Clave E., Lisini D., Douay C., Giorgiani G., Busson M., Zecca M., Moretta F., Acquafredda G., Brescia L.P., Locatelli F., Toubert A. // *Frontiers in Immunology* – 2013. – T. 4 – № MAR.
57. Cooley S. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia / Cooley S., Weisdorf D.J., Guethlein L.A., Klein J.P., Wang T., Le C.T., Marsh S.G.E., Geraghty D., Spellman S., Haagenson M.D., Ladner M., Trachtenberg E., Parham P., Miller J.S. // *Blood* – 2010. – T. 116 – № 14 – C.2411–2419.
58. Cox M. Sex-Differential Impact of Human Cytomegalovirus Infection on In Vitro Reactivity to Toll-Like Receptor 2, 4 and 7/8 Stimulation in Gambian Infants / Cox M., Adetifa J.U., Noho-Konteh F., Sanyang L.C., Drammeh A., Plebanski M., Whittle H.C., Rowland-Jones S.L., Robertson I., Flanagan K.L. // *Vaccines* – 2020. – T. 8 – № 3 – C.407.
59. Crocchiolo R. The patient's CMV serological status affects clinical outcome after T-cell replete haplo-HSCT and post-transplant cyclophosphamide / Crocchiolo R., Castagna L., Furst S., Devillier R., Sarina B., Bramanti S., El-Cheikh J., Granata A., Harbi S., Morabito L., Faucher C., Rimondo A., Girardi D., Mohty B., Calmels B., Carlo-Stella C., Chabannon C., Bouabdallah R., Santoro A., Vey N., Weiller P.J., Blaise D. // *Bone Marrow Transplantation* – 2016. – T. 51 – № 8 – C.1134–1136.
60. Demirel G. Cytomegalovirus Infection in Preterm Triplets Transmitted via Breast Milk / Demirel G., Celik I.H., Canpolat F.E., Dilmen U. // *Journal of Tropical Pediatrics* – 2014. – T. 60 – № 2 – C.168–170.
61. Diaz L. Cytomegalovirus disease in patients with hematopoietic stem cell transplantation, experience over 8 years / Diaz L., Rosales J., Rosso F., Rosales M.,

- Estacio M., Manzi E., Jaramillo F.J. // *Hematology, Transfusion and Cell Therapy* – 2020. – T. 42 – № 1 – C.18–24.
62. Dollard S.C. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection / Dollard S.C., Grosse S.D., Ross D.S. // *Reviews in Medical Virology* – 2007. – T. 17 – № 5 – C.355–363.
63. Dolton G. More tricks with tetramers: a practical guide to staining T cells with peptide-MHC multimers / Dolton G., Tungatt K., Lloyd A., Bianchi V., Theaker S.M., Trimby A., Holland C.J., Donia M., Godkin A.J., Cole D.K., Thor Straten P., Peakman M., Svane I.M., Sewell A.K. // *Immunology* – 2015. – T. 146 – № 1 – C.11–22.
64. Dolton G. Optimized Peptide–MHC Multimer Protocols for Detection and Isolation of Autoimmune T-Cells / Dolton G., Zervoudi E., Rius C., Wall A., Thomas H.L., Fuller A., Yeo L., Legut M., Wheeler S., Attaf M., Chudakov D.M., Choy E., Peakman M., Sewell A.K. // *Frontiers in Immunology* – 2018. – T. 9 – № JUN – C.1378.
65. Doubrovina E. Adoptive immunotherapy with unselected or EBV-specific T cells for biopsy-proven EBV+ lymphomas after allogeneic hematopoietic cell transplantation / Doubrovina E., Oflaz-Sozmen B., Prockop S.E., Kernan N.A., Abramson S., Teruya-Feldstein J., Hedvat C., Chou J.F., Heller G., Barker J.N., Boulad F., Castro-Malaspina H., George D., Jakubowski A., Koehne G., Papadopoulos E.B., Scaradavou A., Small T.N., Khalaf R., Young J.W., O'Reilly R.J. // *Blood* – 2012. – T. 119 – № 11 – C.2644–2656.
66. Dziejczak M. Risk Factors for Cytomegalovirus Infection After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Malignancies: Proposal for Classification / Dziejczak M., Sadowska-Krawczenko I., Styczynski J. // *Anticancer Research* – 2017. – T. 37 – № 12 – C.6551–6556.
67. Egli A. State-of-the-Art Monitoring of Cytomegalovirus-Specific Cell-Mediated Immunity After Organ Transplant: A Primer for the Clinician / Egli A., Humar A., Kumar D. // *Clinical Infectious Diseases* – 2012. – T. 55 – № 12 – C.1678–1689.

68. Einsele H. Infusion of cytomegalovirus (CMV)–specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy / Einsele H., Roosnek E., Rufer N., Sinzger C., Riegler S., Löffler J., Grigoleit U., Moris A., Rammensee H.-G., Kanz L., Kleihauer A., Frank F., Jahn G., Hebart H. // *Blood* – 2002. – T. 99 – № 11 – C.3916–3922.
69. Einsele H. How I treat CMV reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Einsele H., Ljungman P., Boeckh M. // *Blood* – 2020. – T. 135 – № 19 – C.1619–1629.
70. Elmaagacli A.H. Early human cytomegalovirus replication after transplantation is associated with a decreased relapse risk: evidence for a putative virus-versus-leukemia effect in acute myeloid leukemia patients / Elmaagacli A.H., Steckel N.K., Koldehoff M., Hegerfeldt Y., Trenschele R., Ditschkowski M., Christoph S., Gromke T., Kordelas L., Ottinger H.D., Ross R.S., Horn P.A., Schnittger S., Beelen D.W. // *Blood* – 2011. – T. 118 – № 5 – C.1402–1412.
71. Elmaagacli A.H. Cytomegalovirus replication reduces the relapse incidence in patients with acute myeloid leukemia / Elmaagacli A.H., Koldehoff M. // *Blood* – 2016. – T. 128 – № 3 – C.456–459.
72. Emery V. Management of cytomegalovirus infection in haemopoietic stem cell transplantation / Emery V., Zuckerman M., Jackson G., Aitken C., Osman H., Pagliuca A., Potter M., Peggs K., Clark A. // *British Journal of Haematology* – 2013. – T. 162 – № 1 – C.25–39.
73. Emery V.C. Cytomegalovirus: recent progress in understanding pathogenesis and control / Emery V.C. // *QJM* – 2012. – T. 105 – № 5 – C.401–405.
74. Erbey F. Comparison of outcomes after HLA-matched unrelated and $\alpha\beta$ T-cell-depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for children with high-risk acute leukemia / Erbey F., Akçay A., Atay D., Ovalı E., Öztürk G. // *Pediatric Transplantation* – 2018. – T. 22 – № 4 – C.e13192.
75. Esquirol A. Severe infections and infection-related mortality in a large series of

haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide / Esquirol A., Pascual M.J., Kwon M., Pérez A., Parody R., Ferra C., Garcia Cadenas I., Herruzo B., Dorado N., Hernani R., Sanchez-Ortega I., Torrent A., Sierra J., Martino R. // *Bone Marrow Transplantation* – 2021. – T. 56 – № 10 – C.2432–2444.

76. Eyrich M. A prospective comparison of immune reconstitution in pediatric recipients of positively selected CD34+ peripheral blood stem cells from unrelated donors vs recipients of unmanipulated bone marrow from related donors / Eyrich M., Leiler C., Lang P., Schilbach K., Schumm M., Bader P., Greil J., Klingebiel T., Handgretinger R., Niethammer D., Schlegel P.G. // *Bone Marrow Transplantation* – 2003. – T. 32 – № 4 – C.379–390.

77. Fabrizio V.A. Adoptive therapy with CMV-specific cytotoxic T lymphocytes depends on baseline CD4+ immunity to mediate durable responses / Fabrizio V.A., Rodriguez-Sanchez M.I., Mauguen A., Dahi P.B., Doubrovina E., O'Reilly R.J., Prockop S.E. // *Blood Advances* – 2021. – T. 5 – № 2 – C.496–503.

78. Fayard A. Evaluation of infectious complications after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide following reduced-intensity and myeloablative conditioning: a study on behalf of the Francophone Society of Stem Cell / Fayard A., Daguene E., Blaise D., Chevallier P., Labussière H., Berceanu A., Yakoub-Agha I., Socié G., Charbonnier A., Suarez F., Huynh A., Mercier M., Bulabois C.-E., Lioure B., Chantepie S., Beguin Y., Bourhis J.-H., Malfuson J.-V., Clément L., Peffault de la Tour R., Cornillon J. // *Bone Marrow Transplantation* – 2019. – T. 54 – № 10 – C.1586–1594.

79. Feuchtinger T. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation / Feuchtinger T., Opherk K., Bethge W.A., Topp M.S., Schuster F.R., Weissinger E.M., Mohty M., Or R., Maschan M., Schumm M., Hamprecht K., Handgretinger R., Lang P., Einsele H. // *Blood* – 2010. – T. 116 – № 20 – C.4360–4367.

80. Finlay L. Survey of Institutional Policies for Provision of “CMV-Safe” Blood in Ontario / Finlay L., Nippak P., Tiessen J., Isaac W., Callum J., Cserti-Gazdewich C. // *American Journal of Clinical Pathology* – 2016. – T. 146 – № 5 – C.578–584.
81. Forman S.J. Pattern of T cell reconstitution following allogeneic bone marrow transplantation for acute hematological malignancy. / Forman S.J., Nocker P., Gallagher M., Zaia J., Wright C., Bolen J., Mills B., Hecht T. // *Transplantation* – 1982. – T. 34 – № 2 – C.96–97.
82. Gabanti E. Reconstitution of Human Cytomegalovirus–Specific CD4 + T Cells is Critical for Control of Virus Reactivation in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients but Does Not Prevent Organ Infection / Gabanti E., Lilleri D., Ripamonti F., Bruno F., Zelini P., Furione M., Colombo A.A., Alessandrino E.P., Gerna G. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2015. – T. 21 – № 12 – C.2192–2202.
83. Gabanti E. Predictive value of human cytomegalovirus (HCMV) T-cell response in the control of HCMV infection by seropositive solid-organ transplant recipients according to different assays and stimuli. / Gabanti E., Bruno F., Scaramuzzi L., Mangione F., Zelini P., Gerna G., Lilleri D. // *The new microbiologica* – 2016. – T. 39 – № 4 – C.247–258.
84. Garboczi D.N. HLA-A2-peptide complexes: refolding and crystallization of molecules expressed in *Escherichia coli* and complexed with single antigenic peptides. / Garboczi D.N., Hung D.T., Wiley D.C. // *Proceedings of the National Academy of Sciences* – 1992. – T. 89 – № 8 – C.3429–3433.
85. Gatault P. CMV Infection in the Donor and Increased Kidney Graft Loss: Impact of Full HLA-I Mismatch and Posttransplantation CD8 + Cell Reduction / Gatault P., Halimi J., Forconi C., Thibault G., Barbet C., Mérieau E., Gaudy-Graffin C., Marlière J., Goudeau A., Bruyère F., Lebranchu Y., Büchler M., Baron C. // *American Journal of Transplantation* – 2013. – T. 13 – № 8 – C.2119–2129.
86. Gayoso I. Immunosenescence of Human Natural Killer Cells / Gayoso I., Sanchez-Correa B., Campos C., Alonso C., Pera A., Casado J.G., Morgado S., Tarazona R., Solana R. // *Journal of Innate Immunity* – 2011. – T. 3 – № 4 – C.337–343.

87. Gennery A.R. Infection following haematopoietic stem cell transplantation / Gennery A.R., Maggina P. // *Paediatrics and Child Health* – 2014. – T. 24 – № 6 – C.236–241.
88. Gerdemann U. Safety and clinical efficacy of rapidly-generated trivirus-directed T cells as treatment for adenovirus, EBV, and CMV infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplant / Gerdemann U., Katari U.L., Papadopoulou A., Keirnan J.M., Craddock J.A., Liu H., Martinez C.A., Kennedy-Nasser A., Leung K.S., Gottschalk S.M., Krance R.A., Brenner M.K., Rooney C.M., Heslop H.E., Leen A.M. // *Molecular Therapy* – 2013. – T. 21 – № 11 – C.2113–2121.
89. Gerna G. Monitoring of Human Cytomegalovirus-Specific CD4 + and CD8 + T-Cell Immunity in Patients Receiving Solid Organ Transplantation / Gerna G., Lilleri D., Fornara C., Comolli G., Lozza L., Campana C., Pellegrini C., Meloni F., Rampino T. // *American Journal of Transplantation* – 2006. – T. 6 – № 10 – C.2356–2364.
90. Gianella S. Cytomegalovirus and HIV: A Dangerous Pas de Deux / Gianella S., Letendre S. // *Journal of Infectious Diseases* – 2016. – T. 214 – № suppl 2 – C.S67–S74.
91. Girmenia C. Advances in CMV infection prevention and treatment after allo-HSCT / Girmenia C. // *Advances in cell and gene therapy* – 2019. – T. 2 – № 3 – C.e53.
92. Girmenia C. Assessment and prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant and in solid organ transplant: A multidisciplinary consensus conference by the Italian GITMO, SITO, and AMCLI societies / Girmenia C., Lazzarotto T., Bonifazi F., Patriarca F., Irrera G., Ciceri F., Aversa F., Citterio F., Cillo U., Cozzi E., Gringeri E., Baldanti F., Cavallo R., Clerici P., Barosi G., Grossi P. // *Clinical Transplantation* – 2019. – T. 33 – № 10.
93. Goldsmith S.R. Cytomegalovirus viremia, disease, and impact on relapse in T-cell replete peripheral blood haploidentical hematopoietic cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide / Goldsmith S.R., Slade M., DiPersio J.F., Westervelt P., Lawrence S.J., Uy G.L., Abboud C.N., Vij R., Schroeder M.A., Fehniger T.A., Dubberke E.R., Trinkaus K., Romee R. // *Haematologica* – 2016. – T. 101 – № 11 –

C.e465–e468.

94. Goldsmith S.R. Posttransplant cyclophosphamide is associated with increased cytomegalovirus infection: a CIBMTR analysis / Goldsmith S.R., Abid M.B., Auletta J.J., Bashey A., Beitinjaneh A., Castillo P., Chemaly R.F., Chen M., Ciurea S., Dandoy C.E., Díaz M.Á., Fuchs E., Ganguly S., Kanakry C.G., Kanakry J.A., Kim S., Komanduri K. V., Krem M.M., Lazarus H.M., Liu H., Ljungman P., Masiarz R., Mulrone C., Nathan S., Nishihori T., Page K.M., Perales M.-A., Taplitz R., Romee R., Riches M. // *Blood* – 2021. – T. 137 – № 23 – C.3291–3305.
95. Grau-Vorster M. Characterization of a Cytomegalovirus-Specific T Lymphocyte Product Obtained Through a Rapid and Scalable Production Process for Use in Adoptive Immunotherapy / Grau-Vorster M., López-Montañés M., Cantó E., Vives J., Oliver-Vila I., Barba P., Querol S., Rudilla F. // *Frontiers in Immunology* – 2020. – T. 11 – C.271.
96. Green M.L. CMV reactivation after allogeneic HCT and relapse risk: evidence for early protection in acute myeloid leukemia / Green M.L., Leisenring W.M., Xie H., Walter R.B., Mielcarek M., Sandmaier B.M., Riddell S.R., Boeckh M. // *Blood* – 2013. – T. 122 – № 7 – C.1316–1324.
97. Green M.L. Cytomegalovirus viral load and mortality after haemopoietic stem cell transplantation in the era of pre-emptive therapy: a retrospective cohort study / Green M.L., Leisenring W., Xie H., Mast T.C., Cui Y., Sandmaier B.M., Sorrow M.L., Goyal S., Özkök S., Yi J., Sahoo F., Kimball L.E., Jerome K.R., Marks M.A., Boeckh M. // *The Lancet Haematology* – 2016. – T. 3 – № 3 – C.e119–e127.
98. Griffiths P. New vaccines and antiviral drugs for cytomegalovirus / Griffiths P. // *Journal of Clinical Virology* – 2019. – T. 116 – C.58–61.
99. Griffiths P. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host / Griffiths P., Reeves M. // *Nature Reviews Microbiology* – 2021. – T. 19 – № 12 – C.759–773.
100. Hakim F.T. Age-dependent incidence, time course, and consequences of thymic

renewal in adults / Hakim F.T., Memon S.A., Cepeda R., Jones E.C., Chow C.K., Kasten-Sportes C., Odom J., Vance B.A., Christensen B.L., Mackall C.L., Gress R.E. // *Journal of Clinical Investigation* – 2005. – T. 115 – № 4 – C.930–939.

101. Hakki M. Immune reconstitution to cytomegalovirus after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: impact of host factors, drug therapy, and subclinical reactivation / Hakki M., Riddell S.R., Storek J., Carter R.A., Stevens-Ayers T., Sudour P., White K., Corey L., Boeckh M. // *Blood* – 2003. – T. 102 – № 8 – C.3060–3067.

102. Han S.H. Immunological Prediction of Cytomegalovirus (CMV) Replication Risk in Solid Organ Transplantation Recipients: Approaches for Regulating the Targeted Anti-CMV Prevention Strategies / Han S.H. // *Infection & Chemotherapy* – 2017. – T. 49 – № 3 – C.161.

103. Handgretinger R. New Approaches to Graft Engineering for Haploidentical Bone Marrow Transplantation / Handgretinger R. // *Seminars in Oncology* – 2012. – T. 39 – № 6 – C.664–673.

104. Hanley P.J. Functionally active virus-specific T cells that target CMV, adenovirus, and EBV can be expanded from naive T-cell populations in cord blood and will target a range of viral epitopes / Hanley P.J., Cruz C.R.Y., Savoldo B., Leen A.M., Stanojevic M., Khalil M., Decker W., Molldrem J.J., Liu H., Gee A.P., Rooney C.M., Heslop H.E., Dotti G., Brenner M.K., Shpall E.J., Bollard C.M. // *Blood* – 2009. – T. 114 – № 9 – C.1958–1967.

105. He J. [Clinical study of cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation]. / He J., Chen B.-A., Ni M., Wu X., Ding J.-H. // *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi* – 2014. – T. 22 – № 5 – C.1371–6.

106. Heddle N.M. AABB Committee Report: reducing transfusion-transmitted cytomegalovirus infections / Heddle N.M., Boeckh M., Grossman B., Jacobson J., Kleinman S., Tobian A.A.R., Webert K., Wong E.C.C., Roback J.D. // *Transfusion* – 2016. – T. 56 – № 6pt2 – C.1581–1587.

107. Hsieh C.-S. Selection of regulatory T cells in the thymus / Hsieh C.-S., Lee H.-M., Lio C.-W.J. // *Nature Reviews Immunology* – 2012. – T. 12 – № 3 – C.157–167.
108. Hutt D. *Engraftment, Graft Failure, and Rejection* Cham: Springer International Publishing, 2018. – 259–270c.
109. Hyun S.-J. Comprehensive Analysis of Cytomegalovirus pp65 Antigen-Specific CD8+ T Cell Responses According to Human Leukocyte Antigen Class I Allotypes and Intraindividual Dominance / Hyun S.-J., Sohn H.-J., Lee H.-J., Lee S.-D., Kim S., Sohn D.-H., Hong C.-H., Choi H., Cho H.-I., Kim T.-G. // *Frontiers in Immunology* – 2017. – T. 8 – № NOV – C.1591.
110. Irene G.-C. Patterns of infection and infectious-related mortality in patients receiving post-transplant high dose cyclophosphamide as graft-versus-host-disease prophylaxis: impact of HLA donor matching / Irene G.-C., Albert E., Anna B.-V., Rahinatu A., Silvana N., Silvana S., Ana G., Jordi L., Carolina C.A., Miquel G., Carolina M., Javier B., Jorge S., Rodrigo M. // *Bone Marrow Transplantation* – 2021. – T. 56 – № 4 – C.818–827.
111. Ito S. CMV reactivation is associated with a lower incidence of relapse after allo-SCT for CML / Ito S., Pophali P., CO W., Koklanaris E.K., Superata J., Fahle G.A., Childs R., Battiwalla M., Barrett A.J. // *Bone Marrow Transplantation* – 2013. – T. 48 – № 10 – C.1313–1316.
112. Jabs D.A. Characteristics of patients with cytomegalovirus retinitis in the era of highly active antiretroviral therapy²¹For the Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group.²²Conflict of interest: Statements on file with the SOCA Coordinating Center, The / Jabs D.A., Natta M.L. Van, Kempen J.H., Reed Pavan P., Lim J.I., Murphy R.L., Hubbard L.D. // *American Journal of Ophthalmology* – 2002. – T. 133 – № 1 – C.48–61.
113. Jacobsohn D.A. Acute graft versus host disease / Jacobsohn D.A., Vogelsang G.B. // *Orphanet Journal of Rare Diseases* – 2007. – T. 2 – № 1 – C.35.
114. Jakharia N. CMV Infection in Hematopoietic Stem Cell Transplantation:

Prevention and Treatment Strategies / Jakharia N., Howard D., Riedel D.J. // *Current Treatment Options in Infectious Diseases* – 2021. – T. 13 – № 3 – C.123–140.

115. Jamy O. Risk of Cytomegalovirus Infection with Post-Transplantation Cyclophosphamide in Haploidentical and HLA-Matched Unrelated Donor Transplantation / Jamy O., Hebert C., Dunn-Valadez S., Magnusson T., Watts N., McGwin G., Saad A. // *Transplantation and Cellular Therapy* – 2022. – T. 28 – № 4 – C.213.e1-213.e6.

116. Jang J.E. Early CMV replication and subsequent chronic GVHD have a significant anti-leukemic effect after allogeneic HSCT in acute myeloid leukemia / Jang J.E., Kim S.J., Cheong J.-W., Hyun S.Y., Kim Y.D., Kim Y.R., Kim J.S., Min Y.H. // *Annals of Hematology* – 2015. – T. 94 – № 2 – C.275–282.

117. Jansen J. Transplantation of hematopoietic stem cells from the peripheral blood / Jansen J., Hanks S., Thompson J.M., Dugan M.J., Akard L.P. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine* – 2005. – T. 9 – № 1 – C.37–50.

118. Junghanss C. Incidence and outcome of cytomegalovirus infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation, a matched control study / Junghanss C., Boeckh M., Carter R.A., Sandmaier B.M., Maris M.B., Maloney D.G., Chauncey T., McSweeney P.A., Little M.-T., Corey L., Storb R. // *Blood* – 2002. – T. 99 – № 6 – C.1978–1985.

119. Kállay K. Early Experience With CliniMACS Prodigy CCS (IFN-gamma) System in Selection of Virus-specific T Cells From Third-party Donors for Pediatric Patients With Severe Viral Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Kállay K., Kassa C., Réti M., Karászi É., Sinkó J., Goda V., Stréhn A., Csordás K., Horváth O., Szederjesi A., Tasnády S., Hardi A., Kriván G. // *Journal of Immunotherapy* – 2018. – T. 41 – № 3 – C.158–163.

120. Karachaliou M. The Natural History of Human Polyomaviruses and Herpesviruses in Early Life—The Rhea Birth Cohort in Greece / Karachaliou M., Waterboer T., Casabonne D., Chalkiadaki G., Roumeliotaki T., Michel A., Stiakaki E., Chatzi L., Pawlita M., Kogevinas M., Sanjose S. de // *American Journal of Epidemiology* – 2016.

– T. 183 – № 7 – C.671–679.

121. Kawase T. Impact of High-Frequency HLA Haplotypes on Clinical Cytomegalovirus Reactivation in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Kawase T., Tanaka H., Kojima H., Uchida N., Ohashi K., Fukuda T., Ozawa Y., Ikegame K., Eto T., Mori T., Miyamoto T., Hidaka M., Shiratori S., Takanashi M., Atsuta Y., Ichinohe T., Kanda Y., Kanda J. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2019. – T. 25 – № 12 – C.2482–2489.

122. Kaynar L. TcR $\alpha\beta$ -depleted haploidentical transplantation results in adult acute leukemia patients / Kaynar L., Demir K., Turak E.E., Öztürk Ç.P., Zararsız G., Gönen Z.B., Gökahmetoğlu S., Şıvgın S., Eser B., Köker Y., Solmaz M., Ünal A., Çetin M. // *Hematology* – 2017. – T. 22 – № 3 – C.136–144.

123. Kekre N. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Counterpoint / Kekre N., Antin J.H. // *Blood Advances* – 2017. – T. 1 – № 9 – C.573–576.

124. Kern F. Analysis of CD8 T cell reactivity to cytomegalovirus using protein-spanning pools of overlapping pentadecapeptides / Kern F., Faulhaber N., Frömmel C., Khatamzas E., Prösch S., Schönemann C., Kretzschmar I., Volkmer-Engert R., Volk H.-D., Reinke P. // *European Journal of Immunology* – 2000. – T. 30 – № 6 – C.1676–1682.

125. Khimani F. Increased Infections and Delayed CD4+ T Cell but Faster B Cell Immune Reconstitution after Post-Transplantation Cyclophosphamide Compared to Conventional GVHD Prophylaxis in Allogeneic Transplantation / Khimani F., Ranspach P., Elmariah H., Kim J., Whiting J., Nishihori T., Locke F.L., Perez Perez A., Dean E., Mishra A., Perez L., Lazaryan A., Jain M.D., Nieder M., Liu H., Faramand R., Hansen D., Alsina M., Ochoa L., Davila M., Anasetti C., Pidala J., Bejanyan N. // *Transplantation and Cellular Therapy* – 2021. – T. 27 – № 11 – C.940–948.

126. Kim D.H. Risk factors for late cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation using HLA-matched sibling donor: donor lymphocyte infusion and previous history of early CMV infection / Kim D.H., Kim J.G., Lee N.Y., Sung W.J.,

- Sohn S.K., Suh J.S., Lee K.S., Lee K.B. // Bone Marrow Transplantation – 2004. – T. 34 – № 1 – C.21–27.
127. Klein L. Positive and negative selection of the T cell repertoire: what thymocytes see (and don't see) / Klein L., Kyewski B., Allen P.M., Hogquist K.A. // Nature Reviews Immunology – 2014. – T. 14 – № 6 – C.377–391.
128. Klenerman P. T cell responses to cytomegalovirus / Klenerman P., Oxenius A. // Nature Reviews Immunology – 2016. – T. 16 – № 6 – C.367–377.
129. Koehne G. Immunotherapy with Donor T Cells Sensitized with Overlapping Pentadecapeptides for Treatment of Persistent Cytomegalovirus Infection or Viremia / Koehne G., Hasan A., Doubrovina E., Prockop S., Tyler E., Wasilewski G., O'Reilly R.J. // Biology of Blood and Marrow Transplantation – 2015. – T. 21 – № 9 – C.1663–1678.
130. Kotloff R.M. Pulmonary Complications of Solid Organ and Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Kotloff R.M., Ahya V.N., Crawford S.W. // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine – 2004. – T. 170 – № 1 – C.22–48.
131. Kröger N. Antilymphocyte Globulin for Prevention of Chronic Graft-versus-Host Disease / Kröger N., Solano C., Wolschke C., Bandini G., Patriarca F., Pini M., Nagler A., Selleri C., Risitano A., Messina G., Bethge W., Pérez de Oteiza J., Duarte R., Carella A.M., Cimminiello M., Guidi S., Finke J., Mordini N., Ferra C., Sierra J., Russo D., Petrini M., Milone G., Benedetti F., Heinzelmann M., Pastore D., Jurado M., Terruzzi E., Narni F., Völp A., Ayuk F., Ruutu T., Bonifazi F. // New England Journal of Medicine – 2016. – T. 374 – № 1 – C.43–53.
132. Laberko A. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR- α/β - and CD19-Depleted Grafts / Laberko A., Bogoyavlenskaya A., Shelikhova L., Shekhovtsova Z., Balashov D., Voronin K., Kurnikova E., Boyakova E., Raykina E., Brilliantova V., Pirumova V., Novichkova G., Maschan A., Maschan M. // Biology of Blood and Marrow Transplantation – 2017. – T. 23 – № 3 – C.483–490.

133. Law A.D. Reduced-Intensity Conditioning and Dual T Lymphocyte Suppression with Antithymocyte Globulin and Post-Transplant Cyclophosphamide as Graft-versus-Host Disease Prophylaxis in Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplants for Hematological Malignancies / Law A.D., Salas M.Q., Lam W., Michelis F. V., Thyagu S., Kim D. (Dong H., Lipton J.H., Kumar R., Messner H., Viswabandya A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2018. – T. 24 – № 11 – C.2259–2264.
134. Leen A.M. Challenges of T cell therapies for virus-associated diseases after hematopoietic stem cell transplantation / Leen A.M., Tripic T., Rooney C.M. // *Expert Opinion on Biological Therapy* – 2010. – T. 10 – № 3 – C.337–351.
135. Leen A.M. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation / Leen A.M., Bollard C.M., Mendizabal A.M., Shpall E.J., Szabolcs P., Antin J.H., Kapoor N., Pai S.-Y., Rowley S.D., Kebriaei P., Dey B.R., Grilley B.J., Gee A.P., Brenner M.K., Rooney C.M., Heslop H.E. // *Blood* – 2013. – T. 121 – № 26 – C.5113–5123.
136. Leen A.M. Antiviral T-cell therapy / Leen A.M., Heslop H.E., Brenner M.K. // *Immunological Reviews* – 2014. – T. 258 – № 1 – C.12–29.
137. Lin C.-H. Haploidentical allogeneic hematopoietic stem cell transplantation increases the risk of cytomegalovirus infection in adult patients with acute leukemia / Lin C.-H., Su Y.-J., Hsu C.-Y., Wang P.-N., Teng C.-L.J. // *Transplant Infectious Disease* – 2019. – T. 21 – № 4 – C.e13096.
138. Lissina A. Protein kinase inhibitors substantially improve the physical detection of T-cells with peptide-MHC tetramers / Lissina A., Ladell K., Skowera A., Clement M., Edwards E., Seggewiss R., Berg H.A. van den, Gostick E., Gallagher K., Jones E., Melenhorst J.J., Godkin A.J., Peakman M., Price D.A., Sewell A.K., Wooldridge L. // *Journal of Immunological Methods* – 2009. – T. 340 – № 1 – C.11–24.
139. Litjens N.H.R. Potential Beneficial Effects of Cytomegalovirus Infection after Transplantation / Litjens N.H.R., Wagen L. van der, Kuball J., Kwekkeboom J. // *Frontiers in Immunology* – 2018. – T. 9 – № MAR.

140. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation / Ljungman P. // Bone Marrow Transplantation – 2008. – T. 42 – № S1 – C.S70–S72.
141. Ljungman P. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT / Ljungman P., la Camara R. de, Cordonnier C., Einsele H., Engelhard D., Reusser P., Styczynski J., Ward K. // Bone Marrow Transplantation – 2008. – T. 42 – № 4 – C.227–240.
142. 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.
143. Ljungman P. Guidelines for the management of cytomegalovirus infection in patients with haematological malignancies and after stem cell transplantation from the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7) / Ljungman P., la Camara R. de, Robin C., Crocchiolo R., Einsele H., Hill J.A., Hubacek P., Navarro D., Cordonnier C., Ward K.N. // The Lancet Infectious Diseases – 2019. – T. 19 – № 8 – C.e260–e272.
144. Locatelli F. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Locatelli F., Lucarelli B., Merli P. // Expert Opinion on Pharmacotherapy – 2014. – T. 15 – № 1 – C.23–36.
145. Lönnqvist B. Reduced risk of recurrent leukaemia in bone marrow transplant recipients after cytomegalovirus infection / Lönnqvist B., Ringdegn O., Ljungman P., Wahren B., Gahrton G. // British Journal of Haematology – 1986. – T. 63 – № 4 – C.671–679.
146. Luo X.-H. Improving Cytomegalovirus-Specific T Cell Reconstitution after Haploidentical Stem Cell Transplantation / Luo X.-H., Chang Y.-J., Huang X.-J. // Journal of Immunology Research – 2014. – T. 2014 – C.1–12.
147. Luo X.-H. CMV Infection and CMV-Specific Immune Reconstitution Following Haploidentical Stem Cell Transplantation: An Update / Luo X.-H., Zhu Y., Chen Y.-T.,

Shui L.-P., Liu L. // *Frontiers in Immunology* – 2021. – T. 12 – C.4053.

148. 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.

149. Mackall C. T-cell regeneration after bone marrow transplantation: differential CD45 isoform expression on thymic-derived versus thymic-independent progeny / Mackall C., Granger L., Sheard M., Cepeda R., Gress R. // *Blood* – 1993. – T. 82 – № 8 – C.2585–2594.

150. Maecker H.T. Analyzing t-cell responses to cytomegalovirus by cytokine flow cytometry / Maecker H.T., Maino V.C. // *Human Immunology* – 2004. – T. 65 – № 5 – C.493–499.

151. Maertens J. Current and future options for cytomegalovirus reactivation in hematopoietic cell transplantation patients / Maertens J., Lyon S. // *Future Microbiology* – 2017. – T. 12 – № 10 – C.839–842.

152. Manley T.J. Immune evasion proteins of human cytomegalovirus do not prevent a diverse CD8+ cytotoxic T-cell response in natural infection / Manley T.J., Luy L., Jones T., Boeckh M., Mutimer H., Riddell S.R. // *Blood* – 2004. – T. 104 – № 4 – C.1075–1082.

153. Mardani M. The association of conditioning regimen with cytomegalovirus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Mardani M., Abolghasemi S., Shabani S., Tavakoli F., Saeedi A., Parkhideh S., Hajifathali A. // *Iranian Journal of Microbiology* – 2020. – T. 12 – № 6 – C.636.

154. Marek A. The impact of T-cell depletion techniques on the outcome after

haploidentical hematopoietic SCT / Marek A., Stern M., Chalandon Y., Ansari M., Ozsahin H., Güngör T., Gerber B., Kühne T., Passweg J.R., Gratwohl A., Tichelli A., Seger R., Schanz U., Halter J., Stussi G. // *Bone Marrow Transplantation* – 2014. – T. 49 – № 1 – C.55–61.

155. 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.

156. 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.

157. Marty F.M. The prevention of infection post-transplant: the role of prophylaxis, preemptive and empiric therapy / Marty F.M., Rubin R.H. // *Transplant International* – 2006. – T. 19 – № 1 – C.2–11.

158. Marty F.M. Sirolimus-based graft-versus-host disease prophylaxis protects against cytomegalovirus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a cohort analysis / Marty F.M., Bryar J., Browne S.K., Schwarzberg T., Ho V.T., Bassett I. V., Koreth J., Alyea E.P., Soiffer R.J., Cutler C.S., Antin J.H., Baden L.R. // *Blood* – 2007. – T. 110 – № 2 – C.490–500.

159. Marty F.M. Letermovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation / Marty F.M., Ljungman P., Chemaly R.F., Maertens J., Dadwal S.S., Duarte R.F., Haider S., Ullmann A.J., Katayama Y., Brown J., Mullane K.M., Boeckh M., Blumberg E.A., Einsele H., Snyderman D.R., Kanda Y., DiNubile M.J., Teal V.L., Wan H., Murata Y., Kartsonis N.A., Leavitt R.Y., Badshah C. // *New England Journal of Medicine* – 2017. – T. 377 – № 25 – C.2433–2444.

160. Matsumura-Kimoto Y. Association of Cumulative Steroid Dose with Risk of Infection after Treatment for Severe Acute Graft-versus-Host Disease / Matsumura-

Kimoto Y., Inamoto Y., Tajima K., Kawajiri A., Tanaka T., Hirakawa T., Ino K., Asao Y., Tamogami H., Kono C., Takeda W., Okinaka K., Fuji S., Kurosawa S., Kim S.-W., Tanosaki R., Yamashita T., Fukuda T. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2016. – T. 22 – № 6 – C.1102–1107.

161. McGeoch D.J. Topics in herpesvirus genomics and evolution / McGeoch D.J., Rixon F.J., Davison A.J. // *Virus Research* – 2006. – T. 117 – № 1 – C.90–104.

162. Mehdizadeh M. Immunotherapy with adoptive cytomegalovirus-specific T cells transfer: Summarizing latest gene engineering techniques / Mehdizadeh M., Karami S., Ghaffari Nazari H., Sankanian G., Hamidpour M., Hajifathali A. // *Health Science Reports* – 2021. – T. 4 – № 3.

163. Merlo L.M.F. *Adaptive Immunity* Elsevier, 2013. – 25–40c.

164. Micklethwaite K. Ex Vivo Expansion and Prophylactic Infusion of CMV-pp65 Peptide-Specific Cytotoxic T-Lymphocytes following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Micklethwaite K., Hansen A., Foster A., Snape E., Antonenas V., Sartor M., Shaw P., Bradstock K., Gottlieb D. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2007. – T. 13 – № 6 – C.707–714.

165. Miller W. Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation: an association with acute graft-v-host disease / Miller W., Flynn P., McCullough J., Balfour H.J., Goldman A., Haake R., McGlave P., Ramsay N., Kersey J. // *Blood* – 1986. – T. 67 – № 4 – C.1162–1167.

166. Mondaca R. Cytomegalovirus infection in AIDS patients. An illustrative case series / Mondaca R., Fica A., Delama I., Olivares F., Navarrete M. // *Revista médica de Chile* – 2020. – T. 148 – № 6 – C.778–786.

167. Moretta A. Analysis of immune reconstitution in children undergoing cord blood transplantation / Moretta A., Maccario R., Fagioli F., Giraldi E., Busca A., Montagna D., Miniero R., Comoli P., Giorgiani G., Zecca M., Pagani S., Locatelli F. // *Experimental Hematology* – 2001. – T. 29 – № 3 – C.371–379.

168. Muccio L. Analysis of memory-like natural killer cells in human cytomegalovirus-

- infected children undergoing +T and B cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies / Muccio L., Bertaina A., Falco M., Pende D., Meazza R., Lopez-Botet M., Moretta L., Locatelli F., Moretta A., Chiesa M.D. // *Haematologica* – 2016. – T. 101 – № 3 – C.371–381.
169. Müller S.M. Similar pattern of thymic-dependent T-cell reconstitution in infants with severe combined immunodeficiency after human leukocyte antigen (HLA)–identical and HLA-nonidentical stem cell transplantation / Müller S.M., Kohn T., Schulz A.S., Debatin K.-M., Friedrich W. // *Blood* – 2000. – T. 96 – № 13 – C.4344–4349.
170. Na I.-K. Rabbit antithymocyte globulin (Thymoglobulin(R)) impairs the thymic output of both conventional and regulatory CD4+ T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients / Na I.-K., Wittenbecher F., Dziubianau M., Herholz A., Mensen A., Kunkel D., Blau O., Blau I., Thiel E., Uharek L., Scheibenbogen C., Rieger K., Thiel A. // *Haematologica* – 2013. – T. 98 – № 1 – C.23–30.
171. Nakamae H. Effect of Conditioning Regimen Intensity on CMV Infection in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation / Nakamae H., Kirby K.A., Sandmaier B.M., Norasetthada L., Maloney D.G., Maris M.B., Davis C., Corey L., Storb R., Boeckh M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2009. – T. 15 – № 6 – C.694–703.
172. Nanakaly H.T. Seroprevalence of Cytomegalovirus Among Voluntary Blood Donors in Erbil Province, North Iraq. / Nanakaly H.T., Hussen B.M. // *ZANCO JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCES* – 2019. – T. 31 – № 3 – C.1–6.
173. Nazir H.F. T Cell Depleted Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Who Do Not Have Matched Family Donors: Experience in Oman / Nazir H.F., Ba Alawi F.S., Hosni S. Al, Rawas A. Al, Dennison D. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2020. – T. 26 – № 6 – C.1119–1123.
174. Neshler L. Utility of the Enzyme-Linked Immunospot Interferon- γ -Release Assay

- to Predict the Risk of Cytomegalovirus Infection in Hematopoietic Cell Transplant Recipients / Neshor L., Shah D.P., Ariza-Heredia E.J., Azzi J.M., Siddiqui H.K., Ghantaji S.S., Marsh L.Y., Michailidis L., Makedonas G., Rezvani K., Shpall E.J., Chemaly R.F. // *Journal of Infectious Diseases* – 2016. – T. 213 – № 11 – C.1701–1707.
175. Neuenhahn M. Transfer of minimally manipulated CMV-specific T cells from stem cell or third-party donors to treat CMV infection after allo-HSCT / Neuenhahn M., Albrecht J., Odendahl M., Schlott F., Dössinger G., Schiemann M., Lakshmi pathi S., Martin K., Bunjes D., Harsdorf S., Weissinger E.M., Menzel H., Verbeek M., Uharek L., Kröger N., Wagner E., Kobbe G., Schroeder T., Schmitt M., Held G., Herr W., Germeroth L., Bonig H., Tonn T., Einsele H., Busch D.H., Grigoleit G.U. // *Leukemia* – 2017. – T. 31 – № 10 – C.2161–2171.
176. Newell E.W. Cytometry by Time-of-Flight Shows Combinatorial Cytokine Expression and Virus-Specific Cell Niches within a Continuum of CD8+ T Cell Phenotypes / Newell E.W., Sigal N., Bendall S.C., Nolan G.P., Davis M.M. // *Immunity* – 2012. – T. 36 – № 1 – C.142–152.
177. Newell E.W. Combinatorial tetramer staining and mass cytometry analysis facilitate T-cell epitope mapping and characterization / Newell E.W., Sigal N., Nair N., Kidd B.A., Greenberg H.B., Davis M.M. // *Nature Biotechnology* – 2013. – T. 31 – № 7 – C.623–629.
178. Nichols W.G. Rising pp65 antigenemia during preemptive anticytomegalovirus therapy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, correlation with DNA load, and outcomes / Nichols W.G. // *Blood* – 2001. – T. 97 – № 4 – C.867–874.
179. Nunes N.S. Mechanisms of Graft-versus-Host Disease Prevention by Post-transplantation Cyclophosphamide: An Evolving Understanding / Nunes N.S., Kanakry C.G. // *Frontiers in Immunology* – 2019. – T. 10 – C.2668.
180. O’Grady J. Cytomegalovirus infection and donor/recipient HLA antigens: interdependent co-factors in pathogenesis of vanishing bile-duct syndrome after liver transplantation / O’Grady J., Sutherland S., Harvey F., Calne R., Alexander G.M.,

Donaldson P., Portmann B., Williams R. // *The Lancet* – 1988. – T. 332 – № 8606 – C.302–305.

181. 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. – T. 7 – № NOV – C.1.

182. Oshrine B.R. Immunologic Recovery in Children after Alternative Donor Allogeneic Transplantation for Hematologic Malignancies: Comparison of Recipients of Partially T Cell–Depleted Peripheral Blood Stem Cells and Umbilical Cord Blood / Oshrine B.R., Li Y., Teachey D.T., Heimall J., Barrett D.M., Bunin N. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2013. – T. 19 – № 11 – C.1581–1589.

183. Ozdemir Z.N. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Ozdemir Z.N., Civriz Bozdağ S. // *Transfusion and Apheresis Science* – 2018. – T. 57 – № 2 – C.163–167.

184. Patel D.A. Delayed Immune Reconstitution and Increased Viral Infections Following Haploidentical BMT with Post-Transplant Cyclophosphamide for Sickle Cell Disease: Results of a Haploidentical Transplant Consortium for Hemoglobinopathies (ICHH) / Patel D.A., Dhedin N., Chen H., Karnik L., Gatwood K.S., Culos K.A.A., Mohan S., Connelly J.A., Engelhardt B.G., la Fuente J. de, Kassim A.A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2019. – T. 25 – № 3 – C.S39–S40.

185. Pera A. Immunosenescence: Implications for response to infection and vaccination in older people / Pera A., Campos C., López N., Hassouneh F., Alonso C., Tarazona R., Solana R. // *Maturitas* – 2015. – T. 82 – № 1 – C.50–55.

186. Raiola A.M. Unmanipulated Haploidentical Transplants Compared with Other Alternative Donors and Matched Sibling Grafts / Raiola A.M., Dominiotto A., Grazia C. di, Lamparelli T., Gualandi F., Ibatici A., Bregante S., Lint M.T. Van, Varaldo R., Ghiso A., Gobbi M., Carella A.M., Signori A., Galaverna F., Bacigalupo A. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2014. – T. 20 – № 10 – C.1573–1579.

187. Raj R. V Impact of haploidentical hematopoietic cell transplantation conditioning

- intensity on the incidence and severity of post-transplantation viral infections / Raj R. V, Hari P., Pasquini M., Epperla N., D'Souza A., Fenske T., Shaw B.E., Rizzo J.D., Drobyski W., Hamadani M. // *Bone Marrow Transplantation* – 2016. – T. 51 – № 12 – C.1602–1604.
188. Ramanan P. Cytomegalovirus Infections in Solid Organ Transplantation: A Review / Ramanan P., Razonable R.R. // *Infection & Chemotherapy* – 2013. – T. 45 – № 3 – C.260.
189. Razonable R.R. Allograft Rejection Predicts the Occurrence of Late-Onset Cytomegalovirus (CMV) Disease among CMV-Mismatched Solid Organ Transplant Patients Receiving Prophylaxis with Oral Ganciclovir / Razonable R.R., Rivero A., Rodriguez A., Wilson J., Daniels J., Jenkins G., Larson T., Hellinger W.C., Spivey J.R., Paya C. V. // *The Journal of Infectious Diseases* – 2001. – T. 184 – № 11 – C.1461–1464.
190. Reeves M.B. An in vitro model for the regulation of human cytomegalovirus latency and reactivation in dendritic cells by chromatin remodelling / Reeves M.B., Lehner P.J., Sissons J.G.P., Sinclair J.H. // *Journal of General Virology* – 2005. – T. 86 – № 11 – C.2949–2954.
191. Reeves M.B. Analysis of latent viral gene expression in natural and experimental latency models of human cytomegalovirus and its correlation with histone modifications at a latent promoter / Reeves M.B., Sinclair J.H. // *Journal of General Virology* – 2010. – T. 91 – № 3 – C.599–604.
192. Reisner Y. Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives / Reisner Y., Hagin D., Martelli M.F. // *Blood* – 2011. – T. 118 – № 23 – C.6006–6017.
193. Riddell S.R. Therapeutic Reconstitution of Human Viral Immunity by Adoptive Transfer of Cytotoxic T Lymphocyte Clones *Curr Top Microbiol Immunol*, 1994. – 9–34c.
194. Ringhoffer S. T-cell reconstitution after allogeneic stem cell transplantation:

- assessment by measurement of the sjTREC/ TREC ratio and thymic naive T cells / Ringhoffer S., Rojewski M., Dohner H., Bunjes D., Ringhoffer M. // *Haematologica* – 2013. – T. 98 – № 10 – C.1600–1608.
195. Roback J.D. CMV and blood transfusions / Roback J.D. // *Reviews in Medical Virology* – 2002. – T. 12 – № 4 – C.211–219.
196. Roll P. Effect of ATG-F on B-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation / Roll P., Muhammad K., Stuhler G., Grigoleit U., Einsele H., Tony H.P. // *European journal of haematology* – 2015. – T. 95 – № 6 – C.514–523.
197. Romero F.A. Infections in liver transplant recipients / Romero F.A. // *World Journal of Hepatology* – 2011. – T. 3 – № 4 – C.83.
198. Sahin U. An overview of infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Sahin U., Toprak S.K., Atilla P.A., Atilla E., Demirer T. // *Journal of Infection and Chemotherapy* – 2016. – T. 22 – № 8 – C.505–514.
199. Sahu K.K. Infectious disease in hematopoietic stem cell transplantation / Sahu K.K. // *Therapeutic Advances in Infectious Disease* – 2021. – T. 8 – C.204993612110056.
200. Salas M.Q. Dual T-cell depletion with ATG and PTCy for peripheral blood reduced intensity conditioning allo-HSCT results in very low rates of GVHD / Salas M.Q., Prem S., Atenafu E.G., Datt Law A., Lam W., Al-Shaibani Z., Loach D., Kim D. (Dong H., Michelis F. V., Lipton J.H., Kumar R., Mattsson J., Viswabandya A. // *Bone Marrow Transplantation* – 2020. – T. 55 – № 9 – C.1773–1783.
201. Sandherr M. Antiviral prophylaxis in patients with solid tumours and haematological malignancies—update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO) / Sandherr M., Hentrich M., Lilienfeld-Toal M. von, Massenkeil G., Neumann S., Penack O., Biehl L., Cornely O.A. // *Annals of Hematology* – 2015. – T. 94 – № 9 – C.1441–1450.
202. Scheinberg P. Distinct EBV and CMV reactivation patterns following antibody-

based immunosuppressive regimens in patients with severe aplastic anemia / Scheinberg P., Fischer S.H., Li L., Nunez O., Wu C.O., Sloand E.M., Cohen J.I., Young N.S., John Barrett A. // *Blood* – 2007. – T. 109 – № 8 – C.3219–3224.

203. Scheper W. $\gamma\delta$ T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia / Scheper W., Dorp S. van, Kersting S., Pietersma F., Lindemans C., Hol S., Heijhuurs S., Sebestyen Z., Gründer C., Marcu-Malina V., Marchant A., Donner C., Plachter B., Vermijlen D., Baarle D. van, Kuball J. // *Leukemia* – 2013. – T. 27 – № 6 – C.1328–1338.

204. Schlott F. Characterization and clinical enrichment of HLA-C*07:02-restricted Cytomegalovirus-specific CD8+ T cells / Schlott F., Steubl D., Ameres S., Moosmann A., Dreher S., Heemann U., Hösel V., Busch D.H., Neuenhahn M. // *PLOS ONE* – 2018. – T. 13 – № 2 – C.e0193554.

205. 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.

206. Schmitt A. Adoptive transfer and selective reconstitution of streptamer-selected cytomegalovirus-specific CD8+ T cells leads to virus clearance in patients after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation / Schmitt A., Tonn T., Busch D.H., Grigoleit G.U., Einsele H., Odendahl M., Germeroth L., Ringhoffer M., Ringhoffer S., Wiesneth M., Greiner J., Michel D., Mertens T., Rojewski M., Marx M., Harsdorf S. von, Döhner H., Seifried E., Bunjes D., Schmitt M. // *Transfusion* – 2011. – T. 51 – № 3 – C.591–599.

207. Schumm M. Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device / Schumm M., Lang P., Bethge W., Faul C., Feuchtinger T., Pfeiffer M., Vogel W., Huppert V., Handgretinger R. // *Cytotherapy* – 2013. – T. 15 – № 10 – C.1253–1258.

208. Seckert C.K. Viral latency drives ‘memory inflation’: a unifying hypothesis linking two hallmarks of cytomegalovirus infection / Seckert C.K., Griebel M., Büttner J.K., Scheller S., Simon C.O., Kropp K.A., Renzaho A., Kühnapfel B., Grzimek N.K.A., Reddehase M.J. // *Medical Microbiology and Immunology* – 2012. – T. 201 – № 4 – C.551–566.
209. Sedky M. Cytomegalovirus Infection in Pediatric Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. A Single Center Experience / Sedky M., Mekki Y., Mialou V., Bleyzac N., Girard S., Salama E., Abdel Rahman H., Bertrand Y. // *Pediatric Hematology and Oncology* – 2014. – T. 31 – № 8 – C.743–753.
210. Seggewiss R. Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update / Seggewiss R., Einsele H. // *Blood* – 2010. – T. 115 – № 19 – C.3861–3868.
211. Seo S. Serologic Screening of Pregnant Korean Women for Primary Human Cytomegalovirus Infection Using IgG Avidity Test / Seo S., Cho Y., Park J. // *Annals of Laboratory Medicine* – 2009. – T. 29 – № 6 – C.557–562.
212. Servais S. Reconstitution of adaptive immunity after umbilical cord blood transplantation: impact on infectious complications / Servais S., Hannon M., Peffault de Latour R., Socie G., Beguin Y. // *Stem Cell Investigation* – 2017. – T. 4 – № 6 – C.40–40.
213. Sester M. Levels of virus-specific CD4 T cells correlate with cytomegalovirus control and predict virus-induced disease after renal transplantation
TRANSPLANTATION1 / Sester M., Sester U., Gartner B., Heine G., Girndt M., Mueller-Lantsch N., Meyerhans A., Kohler H. // *Transplantation* – 2001. – T. 71 – № 9 – C.1287–1294.
214. Slade M. Epidemiology of infections following haploidentical peripheral blood hematopoietic cell transplantation / Slade M., Goldsmith S., Romee R., DiPersio J.F., Dubberke E.R., Westervelt P., Uy G.L., Lawrence S.J. // *Transplant Infectious Disease* – 2017. – T. 19 – № 1 – C.e12629.

215. Snyder L.D. Polyfunctional T-Cell Signatures to Predict Protection from Cytomegalovirus after Lung Transplantation / Snyder L.D., Chan C., Kwon D., Yi J.S., Martissa J.A., Copeland C.A.F., Osborne R.J., Sparks S.D., Palmer S.M., Weinhold K.J. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* – 2016. – T. 193 – № 1 – C.78–85.
216. Socié G. Chronic graft-versus-host disease: long-term results from a randomized trial on graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin ATG-Fresenius / Socié G., Schmoor C., Bethge W.A., Ottinger H.D., Stelljes M., Zander A.R., Volin L., Ruutu T., Heim D.A., Schwerdtfeger R., Kolbe K., Mayer J., Maertens J.A., Linkesch W., Holler E., Koza V., Bornhäuser M., Einsele H., Kolb H.-J., Bertz H., Egger M., Grishina O., Finke J. // *Blood* – 2011. – T. 117 – № 23 – C.6375–6382.
217. Solana R. Innate immunosenescence: Effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans / Solana R., Tarazona R., Gayoso I., Lesur O., Dupuis G., Fulop T. // *Seminars in Immunology* – 2012. – T. 24 – № 5 – C.331–341.
218. Solano C. Pre-engraftment cytomegalovirus DNAemia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: incidence, risk factors, and clinical outcomes / Solano C., Giménez E., Albert E., Mateo E.M., Gómez M., Goterris R., Pérez A., Amat P., Hernández-Boluda J.C., Poch M., Piñana J.L., Navarro D. // *Bone Marrow Transplantation* – 2019. – T. 54 – № 1 – C.90–98.
219. Song J. The Adipocyte and Adaptive Immunity / Song J., Deng T. // *Frontiers in Immunology* – 2020. – T. 11 – C.3052.
220. Sousa H. Cytomegalovirus Infection in Patients Who Underwent Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Portugal: A Five-Year Retrospective Review / Sousa H., Boutolleau D., Ribeiro J., Teixeira A.L., Pinho Vaz C., Campilho F., Branca R., Campos Jr A., Baldaque I., Medeiros R. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2014. – T. 20 – № 12 – C.1958–1967.
221. Staras S.A.S. Influence of Sexual Activity on Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States, 1988–1994 / Staras S.A.S., Flanders W.D., Dollard S.C., Pass R.F., McGowan J.E., Cannon M.J. // *Sexually Transmitted Diseases* – 2008. – T. 35 – № 5 –

C.472–479.

222. Stemberger C. Lowest numbers of primary CD8⁺ T cells can reconstitute protective immunity upon adoptive immunotherapy / Stemberger C., Graef P., Odendahl M., Albrecht J., Dössinger G., Anderl F., Buchholz V.R., Gasteiger G., Schiemann M., Grigoleit G.U., Schuster F.R., Borkhardt A., Versluys B., Tonn T., Seifried E., Einsele H., Germeroth L., Busch D.H., Neuenhahn M. // *Blood* – 2014. – T. 124 – № 4 – C.628–637.

223. Storek J. Infectious morbidity in long-term survivors of allogeneic marrow transplantation is associated with low CD4 T cell counts / Storek J., Gooley T., Witherspoon R.P., Sullivan K.M., Storb R. // *American Journal of Hematology* – 1997. – T. 54 – № 2 – C.131–138.

224. Storek J. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation / Storek J., Dawson M.A., Storer B., Stevens-Ayers T., Maloney D.G., Marr K.A., Witherspoon R.P., Bensinger W., Flowers M.E.D., Martin P., Storb R., Appelbaum F.R., Boeckh M. // *Blood* – 2001. – T. 97 – № 11 – C.3380–3389.

225. Storek J. Factors influencing B lymphopoiesis after allogeneic hematopoietic cell transplantation / Storek J., Wells D., Dawson M.A., Storer B., Maloney D.G. // *Blood* – 2001. – T. 98 – № 2 – C.489–491.

226. Stuck A.E. Risk of Infectious Complications in Patients Taking Glucocorticosteroids / Stuck A.E., Minder C.E., Frey F.J. // *Clinical Infectious Diseases* – 1989. – T. 11 – № 6 – C.954–963.

227. Styczynski J. Who Is the Patient at Risk of CMV Recurrence: A Review of the Current Scientific Evidence with a Focus on Hematopoietic Cell Transplantation / Styczynski J. // *Infectious Diseases and Therapy* – 2018. – T. 7 – № 1 – C.1–16.

228. Suárez-Lledó M. Deleterious Effect of Steroids on Cytomegalovirus Infection Rate after Allogeneic Stem Cell Transplantation Depends on Pretransplant Cytomegalovirus Serostatus of Donors and Recipients / Suárez-Lledó M., Martínez-Cibrián N., Gutiérrez-

- García G., Dimova-Svetoslavova V., Marcos M.A., Martín-Antonio B., Martínez-Trillos A., Villamor N., Rosiñol L., Martínez C., Fernández-Avilés F., García-Vidal C., Urbano-Ispizua Á., Rovira M. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2018. – T. 24 – № 10 – C.2088–2093.
229. Suessmuth Y. Potent Interaction between CMV Reactivation and Gvhd: Immunologic Evidence for Blunting of CMV-Driven Immune Reconstitution in the Setting of Gvhd / Suessmuth Y., Betz K., Yu A., Bratrude B., Watkins B., Qayed M., Horan J.T., Kean L., Langston A. // *Blood* – 2020. – T. 136 – № Supplement 1 – C.50–50.
230. Sund F. CMV-specific T-cell immunity, viral load, and clinical outcome in seropositive renal transplant recipients: a pilot study / Sund F., Lidehäll A.-K., Claesson K., Foss A., Tötterman T.H., Korsgren O., Eriksson B.-M. // *Clinical Transplantation* – 2009. – T. 24 – № 3 – C.401–409.
231. Takenaka K. Cytomegalovirus Reactivation after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation is Associated with a Reduced Risk of Relapse in Patients with Acute Myeloid Leukemia Who Survived to Day 100 after Transplantation: The Japan Society for Hematopoietic C / Takenaka K., Nishida T., Asano-Mori Y., Oshima K., Ohashi K., Mori T., Kanamori H., Miyamura K., Kato C., Kobayashi N., Uchida N., Nakamae H., Ichinohe T., Morishima Y., Suzuki R., Yamaguchi T., Fukuda T. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2015. – T. 21 – № 11 – C.2008–2016.
232. Teira P. Early cytomegalovirus reactivation remains associated with increased transplant-related mortality in the current era: a CIBMTR analysis / Teira P., Battiwalla M., Ramanathan M., Barrett A.J., Ahn K.W., Chen M., Green J.S., Saad A., Antin J.H., Savani B.N., Lazarus H.M., Seftel M., Saber W., Marks D., Aljurf M., Norkin M., Wingard J.R., Lindemans C.A., Boeckh M., Riches M.L., Auletta J.J. // *Blood* – 2016. – T. 127 – № 20 – C.2427–2438.
233. Tischer J. Virus infection in HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: incidence in the context of immune recovery in two different transplantation settings / Tischer J., Engel N., Fritsch S., Prevalsek D., Hubmann M.,

- Schulz C., Zoellner A.-K., Bücklein V., Reibke R., Mumm F., Rieger C.T., Hill W., Ledderose G., Stemmler H.J., Köhnke T., Jäger G., Kolb H.J., Schmid C., Moosmann A., Hausmann A. // *Annals of Hematology* – 2015. – T. 94 – № 10 – C.1677–1688.
234. Tomonari A. Impact of cytomegalovirus serostatus on outcome of unrelated cord blood transplantation for adults: a single-institute experience in Japan / Tomonari A., Takahashi S., Ooi J., Tsukada N., Konuma T., Kato S., Kasahara S., Iseki T., Yamaguchi T., Tojo A., Asano S. // *European Journal of Haematology* – 2008. – T. 80 – № 3 – C.251–257.
235. Tzannou I. Off-the-Shelf Virus-Specific T Cells to Treat BK Virus, Human Herpesvirus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation / Tzannou I., Papadopoulou A., Naik S., Leung K., Martinez C.A., Ramos C.A., Carrum G., Sasa G., Lulla P., Watanabe A., Kuvalekar M., Gee A.P., Wu M.-F., Liu H., Grilley B.J., Krance R.A., Gottschalk S., Brenner M.K., Rooney C.M., Heslop H.E., Leen A.M., Omer B. // *Journal of Clinical Oncology* – 2017. – T. 35 – № 31 – C.3547–3557.
236. Udomah F.A. Cytomegalovirus infection among Blood Donors in Usmanu Danfodiyo University Teaching Hospital Sokoto, Nigeria / Udomah F.A., Jobbi Y.D., Isah I.Z., Abdulrahman Y., Onuigwe F., Egenti N.B., Musa B., Erhabor O. // *International Journal of PharmTech Research* – 2016. – T. 6 – № 2 – C.321–334.
237. Valadkhani B. The risk factors for cytomegalovirus reactivation following stem cell transplantation / Valadkhani B., Kargar M., Ashouri A., Hadjibabaie M., Gholami K., Ghavamzadeh A. // *Journal of Research in Pharmacy Practice* – 2016. – T. 5 – № 1 – C.63.
238. Valencia Deray K.G. Epidemiology and long-term outcomes of cytomegalovirus DNAemia and disease in pediatric solid organ transplant recipients / Valencia Deray K.G., Hosek K.E., Chilukuri D., Dunson J.R., Spielberg D.R., Swartz S.J., Spinner J.A., Leung D.H., Moulton E.A., Munoz F.M., Demmler-Harrison G.J., Bocchini C.E. // *American Journal of Transplantation* – 2022. – T. 22 – № 1 – C.187–198.
239. Vilibic-Cavlek T. Seroepidemiology of cytomegalovirus infections in Croatia /

- Vilibic-Cavlek T., Kolaric B., Beader N., Vrtar I., Tabain I., Mlinaric-Galinovic G. // Wiener klinische Wochenschrift – 2017. – T. 129 – № 3–4 – C.129–135.
240. Wachsmuth L.P. Optimized Timing of Post-Transplantation Cyclophosphamide in MHC-Haploidentical Murine Hematopoietic Cell Transplantation / Wachsmuth L.P., Patterson M.T., Eckhaus M.A., Venzon D.J., Kanakry C.G. // Biology of Blood and Marrow Transplantation – 2020. – T. 26 – № 2 – C.230–241.
241. Walter E.A. Reconstitution of Cellular Immunity against Cytomegalovirus in Recipients of Allogeneic Bone Marrow by Transfer of T-Cell Clones from the Donor / Walter E.A., Greenberg P.D., Gilbert M.J., Finch R.J., Watanabe K.S., Thomas E.D., Riddell S.R. // New England Journal of Medicine – 1995. – T. 333 – № 16 – C.1038–1044.
242. Waner J.L. Analysis of antigenic diversity among human cytomegaloviruses by kinetic neutralization tests with high-titered rabbit antisera / Waner J.L., Weller T.H. // Infection and Immunity – 1978. – T. 21 – № 1 – C.151–157.
243. Watanabe M. Impact of cumulative steroid dose on infectious diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Watanabe M., Kanda J., Hishizawa M., Kondo T., Yamashita K., Takaori-Kondo A. // Transplant Infectious Disease – 2019. – T. 21 – № 2 – C.e13049.
244. Weisberg S.P. Survey on Transfusion-Transmitted Cytomegalovirus and Cytomegalovirus Disease Mitigation / Weisberg S.P., Staley E.M., Williams L.A., Pham H.P., Bachegowda L.S., Cheng Y.H., Schwartz J., Shaz B.H. // Archives of Pathology & Laboratory Medicine – 2017. – T. 141 – № 12 – C.1705–1711.
245. Welten S.P.M. Viral Persistence Induces Antibody Inflation without Altering Antibody Avidity / Welten S.P.M., Redeker A., Toes R.E.M., Arens R. // Journal of Virology – 2016. – T. 90 – № 9 – C.4402–4411.
246. Wilkinson G.W.G. Human cytomegalovirus: taking the strain / Wilkinson G.W.G., Davison A.J., Tomasec P., Fielding C.A., Aicheler R., Murrell I., Seirafian S., Wang E.C.Y., Weekes M., Lehner P.J., Wilkie G.S., Stanton R.J. // Medical Microbiology and

Immunology – 2015. – T. 204 – № 3 – C.273–284.

247. Wills M.R. The human cytotoxic T-lymphocyte (CTL) response to cytomegalovirus is dominated by structural protein pp65: frequency, specificity, and T-cell receptor usage of pp65-specific CTL / Wills M.R., Carmichael A.J., Mynard K., Jin X., Weekes M.P., Plachter B., Sissons J.G. // *Journal of Virology* – 1996. – T. 70 – № 11 – C.7569–7579.

248. Wills M.R. Identification of Naive or Antigen-Experienced Human CD8 + T Cells by Expression of Costimulation and Chemokine Receptors: Analysis of the Human Cytomegalovirus-Specific CD8 + T Cell Response / Wills M.R., Okecha G., Weekes M.P., Gandhi M.K., Sissons P.J.G., Carmichael A.J. // *The Journal of Immunology* – 2002. – T. 168 – № 11 – C.5455–5464.

249. Witte M.A. de $\alpha\beta$ T-cell graft depletion for allogeneic HSCT in adults with hematological malignancies / Witte M.A. de, Janssen A., Nijssen K., Karaiskaki F., Swanenberg L., Rhenen A. van, Admiraal R., Wagen L. van der, Minnema M.C., Petersen E., Raymakers R.A.P., Westinga K., Straetemans T., Halkes C.J.M., Boelens J.-J., Kuball J. // *Blood Advances* – 2021. – T. 5 – № 1 – C.240–249.

250. Wooldridge L. Tricks with tetramers: how to get the most from multimeric peptide-MHC / Wooldridge L., Lissina A., Cole D.K., Berg H.A. van den, Price D.A., Sewell A.K. // *Immunology* – 2009. – T. 126 – № 2 – C.147–164.

251. Wu S.-J. Recurrent cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Taiwan: A single institutional experience / Wu S.-J., Lin C.-H., Yao M., Tang J.-L. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation* – 2006. – T. 12 – № 2 – C.141.

252. Yahav D. Antiviral prophylaxis in haematological patients: Systematic review and meta-analysis / Yahav D., Gafter-Gvili A., Muchtar E., Skalsky K., Kariv G., Yeshurun M., Leibovici L., Paul M. // *European Journal of Cancer* – 2009. – T. 45 – № 18 – C.3131–3148.

253. Yanada M. Cytomegalovirus antigenemia and outcome of patients treated with pre-

emptive ganciclovir: retrospective analysis of 241 consecutive patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Yanada M., Yamamoto K., Emi N., Naoe T., Suzuki R., Taji H., Iida H., Shimokawa T., Kohno A., Mizuta S., Maruyama F., Wakita A., Kitaori K., Yano K., Hamaguchi M., Hamajima N., Morishima Y., Kodera Y., Sao H., Morishita Y. // *Bone Marrow Transplantation* – 2003. – T. 32 – № 8 – C.801–807.

254. Yang X. Anti-Thymocyte Globulin Prophylaxis in Patients With Hematological Malignancies Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Updated Meta-Analysis / Yang X., Li D., Xie Y. // *Frontiers in Oncology* – 2021. – T. 11.

255. Yasuda A. Evaluation of Cytomegalovirus Infections Transmitted via Breast Milk in Preterm Infants With a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay / Yasuda A., Kimura H., Hayakawa M., Ohshiro M., Kato Y., Matsuura O., Suzuki C., Morishima T. // *Pediatrics* – 2003. – T. 111 – № 6 – C.1333–1336.

256. Yeh T.-J. Revisit of the Association between Cytomegalovirus Infection and Invasive Fungal Infection after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Real-World Analysis from a High CMV Seroprevalence Area / Yeh T.-J., Yang C.-I., Huang C.-T., Wang M.-H., Chuang T.-M., Ke Y.-L., Gau Y.-C., Du J.-S., Wang H.-C., Cho S.-F., Lee C.-P., Hsu C.-M., Hsiao H.-H., Liu Y.-C. // *Journal of Fungi* – 2022. – T. 8 – № 4 – C.408.

257. Yokoyama H. Effects of HLA mismatch on cytomegalovirus reactivation in cord blood transplantation / Yokoyama H., Kanda J., Kato S., Kondo E., Maeda Y., Saji H., Takahashi S., Onizuka M., Onishi Y., Ozawa Y., Kanamori H., Ishikawa J., Ohno Y., Ichinohe T., Takanashi M., Kato K., Atsuta Y., Kanda Y. // *Bone Marrow Transplantation* – 2019. – T. 54 – № 7 – C.1004–1012.

258. Yoon J.-H. Impact of cytomegalovirus reactivation on relapse and survival in patients with acute leukemia who received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in first remission / Yoon J.-H., Lee S., Kim H.-J., Jeon Y.-W., Lee S.-E., Cho B.-S., Lee D.-G., Eom K.-S., Kim Y.-J., Min C.-K., Cho S.-G., Min W.-S., Lee

J.W. // *Oncotarget* – 2016. – T. 7 – № 13 – C.17230–17241.

259. Zhang Y.-L. Cytomegalovirus infection is associated with AML relapse after allo-HSCT: a meta-analysis of observational studies / Zhang Y.-L., Zhu Y., Xiao Q., Wang L., Liu L., Luo X.-H. // *Annals of Hematology* – 2019. – T. 98 – № 4 – C.1009–1020.

260. Zuhair M. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis / Zuhair M., Smit G.S.A., Wallis G., Jabbar F., Smith C., Devleeschauwer B., Griffiths P. // *Reviews in Medical Virology* – 2019. – T. 29 – № 3 – C.e2034.

261. Zutter M. Epstein-Barr virus lymphoproliferation after bone marrow transplantation / Zutter M., Martin P., Sale G., Shulman H., Fisher L., Thomas E., Durnam D. // *Blood* – 1988. – T. 72 – № 2 – C.520–529.